

**In vivo Nahinfrarot-Fluoreszenz-
Endoskopie mit Indocyaningrün (ICG) zur
diagnostischen Abklärung von Kopf-Hals-
Tumoren**

-

**Durchführbarkeit und Erhebung erster
klinischer Daten**

Dissertation

zur Erlangung des akademischen Grades

doctor medicinae (Dr. med.)

vorgelegt dem Rat der Medizinischen Fakultät

der Friedrich-Schiller-Universität Jena

von Florian Schmidt

geboren am 28.04.1985 in Dresden

Gutachter:

1.

2.

3.

Tag der öffentlichen Verteidigung:

Abkürzungsverzeichnis

Abkürzung	Bezeichnung
Abb.	Abbildung
AJCC	American Joint Committee on Cancer (USA)
bzw.	Beziehungsweise
CIS	Carcinoma in situ
DNS	Desoxyribonukleinsäure
ENT	Ear, Nose & Throat
etc.	Et cetera
EGFR	epidermal growth factor receptor
EMA	European Medicines Agency
FDA	American Food and Drug Administration (USA)
FDPM	Frequency Domain Photon Migration
FLARE	Fluorescence-Assisted Resection and Exploration
HD	High definition
HNO	Hals-Nasen-Ohrenheilkunde
HPV	Humanes Papillomavirus
ICG	Indocyanningrün
i.v.	intravenös
LED	Light emitting diode
MRT	Magnetresonanztomografie
NCCN	The National Comprehensive Cancer Network (USA)
NICE	The National Institute for Health and Care Excellence (GB)
NIR	Nahinfrarot
NS	not specified
OP	Operation
PDE	Photodynamic Eye
PET	Positronen-Emissions-Tomographie
SIN	Squamous intraepithelial Neoplasia
SL	Stimmlippe
SLN	Sentinel Lymphknoten, Wächterlymphknoten
SPIES	Storz Professional Image Enhancement System
TNM	Tumor, Nodus, Metastasen

TORS	Transorale Roboterchirurgie, transoral robotic surgery
UICC	Union internationale contre le cancer (Internationale Vereinigung gegen Krebs, Genf, CH)
VEGF	Vascular endothelial growth factor
vs.	versus
WLE	Weißlichtendoskopie

Inhaltsverzeichnis

1. Zusammenfassung
2. Einleitung
 - 2.1. Relevanz maligner Kopf-Hals-Tumoren
 - 2.2. Karzinogenese und prä maligne Läsionen
 - 2.3. Diagnostik maligner Kopf-Hals-Tumoren
 - 2.4. Rolle der chirurgischen Therapie und Resektionsgrenzen bei malignen Kopf-Hals-Tumoren
 - 2.5. Nahinfrarot (NIR-)Fluoreszenz mit Indocyaningrün (ICG)
 - 2.6. Klinische Anwendung von ICG in der Onkologie
3. Ziele der Arbeit
4. Material und Methoden
 - 4.1. Untersuchungszeitraum und Studienrahmen
 - 4.2. Auswahlkriterien und Patientenzahl
 - 4.3. NIR-Kamera-System
 - 4.4. Untersuchungsablauf
 - 4.5. Datenauswertung ex vivo
 - 4.6. Statistische Auswertung
5. Ergebnisse
 - 5.1. Patientencharakteristika
 - 5.2. Nahinfrarot-/ICG Ergebnisse
 - 5.2.1. Normalbefunde und ICG-positive Gefäße
 - 5.2.2. ICG-Positivität von Tumoren
 - 5.2.3. ICG-Retention von Tumoren
 - 5.2.4. Tumorgroße mit Weißlicht und NIR/ICG-Endoskopie
 - 5.2.5. Nahbetrachtung von Tumoren mit NIR/ICG-Endoskopie
 - 5.2.6. Blutungen während der NIR/ICG-Endoskopie
 - 5.3. SPIES Visualisierungstechniken
6. Diskussion
 - 6.1. Rekapitulation relevanter Ergebnisse der Studie
 - 6.2. Stärken und Limitationen der Studie
 - 6.3. Studienergebnisse im Kontext bisheriger Literatur
 - 6.3.1. ICG bei anderen soliden Tumoren
 - 6.3.2. ICG bei Kopf-Hals-Tumoren
 - 6.3.3. SPIES Visualisierungstechniken

6.4. Bedeutung für die klinische Anwendung und Grenzen der Bedeutung von ICG

7. Schlussfolgerung
8. Literatur- und Quellenverzeichnis
9. Abbildungsverzeichnis
10. Tabellenverzeichnis
11. Anhang
 - 11.1. Vorabpublikation
 - 11.2. Lebenslauf
 - 11.3. Danksagung
 - 11.4. Ehrenwörtliche Erklärung

1. Zusammenfassung

Im Durchschnitt werden 2 von 3 Kopf-Hals-Plattenepithelkarzinomen erst im fortgeschrittenen Stadium und somit schlechter Prognose diagnostiziert. Außerdem liegen in vivo aufgrund der Feldkanzerisierung oft ausgedehnte prä-neoplastische Schleimhautveränderungen sowie chronisch entzündliche, dysplastische und maligne Gewebe nebeneinander vor, welche sich visuell nicht akkurat unterscheiden lassen. Eine vollständige Tumoresektion (R0) andererseits ist bei der chirurgischen Herangehensweise entscheidend für das Outcome. Der Chirurg ist dabei bei der Bestimmung der Tumorgrenzen auf die subjektive Beurteilung mit Weißlicht sowie das (zeitaufwändige) histologische Ergebnis angewiesen. Es sind daher neue optische Verfahren, welche eine schnelle, sichere Differenzierung von benignen und malignen Geweben erlauben erforderlich. Die Entwicklung optischer Fluoreszenz-Techniken mit Nahinfrarot (NIR) zur Diagnostik solider Tumoren, speziell Plattenepithelkarzinomen der Kopf-Hals-Region ist ein vielversprechendes Gebiet von wachsendem Interesse. Das Verfahren liefert Echtzeitinformationen über Vorhandensein, Lokalisation und Ausdehnung von Karzinomgewebe durch die Entwicklung eines spezifischen Kontrasts zwischen normalem und malignem Gewebe.

Ziel der aktuellen Studie war es die Durchführbarkeit, Möglichkeiten und Nachteile sowie Einschränkungen der NIR-Endoskopie mit Indocyaningrün (ICG) zur diagnostischen Abklärung von Kopf-Hals-Tumoren zu untersuchen. Die NIR/ICG-Endoskopie wurde in vivo zur Visualisierung von Tumoren von Larynx (55%), Oropharynx (28%), Mundhöhle (15%) und Hypopharynx (2%) durchgeführt und als Video gespeichert. Es wurden insgesamt 83 Patienten eingeschlossen, wobei Männer mit 72.3% das Kollektiv dominierten. Sämtliche Befunde wurden vergleichend mit der Weißlichtendoskopie (WLE, =Standard) betrachtet. 38 der Tumoren wurden zusätzlich mit verstärktem Oberflächenkontrast (SPIES) betrachtet. Anschließend wurden als Referenz Biopsien der Tumoren zur histologischen Untersuchung entnommen. Die Auswertung der ICG-Videos erfolgte offline durch einen Untersucher unabhängig vom histologischen Ergebnis. Die Videos wurden dabei wiederholt und anhand der einzelnen Frames (12/Sekunde) beurteilt. Die Auswertung erfolgte nach den Kriterien:

1. ICG-Positivität der Raumforderung (ja/nein). Positiv wurde ein schnelles Anfluten von ICG innerhalb von Sekunden nach intravenöser Gabe und eine deutlich kontrastgebende Fluoreszenz der Raumforderung im Vergleich zum umliegenden Gewebe definiert.
2. Pooling (Retention) von ICG innerhalb der Raumforderung (ja/nein) über die Aufzeichnungsdauer des Videos.

3. Im Falle eines ICG-positiven Tumors Vergleich der Tumorgroße bzw. -grenze mit NIR und Weißlicht (gleich/größer/kleiner).
4. Nahbetrachtung der Tumoroberflächen mit einer etwa 10-fachen bis zu 25-fachen Vergrößerung mit WLE (SPIES) und NIR/ICG-Endoskopie mit Beurteilung oberflächlicher Gefäßstrukturen (normal/abnorm/fehlend).

Die Korrelation der ICG-Positivität mit einem malignen Tumor ergab eine Sensitivität von 94,1%, Spezifität von 85,7% und Test-Genauigkeit von 89,2% sowie einen positiven prädiktiven Wert von 82,1% und einen negativen prädiktiven Wert von 95,5%. Falsch ICG-positive benigne Befunde beliefen sich hauptsächlich auf chronisch entzündliche Gewebe (4 von 6 Tonsillen). Bei den falsch ICG-negativen Plattenepithelkarzinomen (2) handelte es sich um Rezidive nach vorangegangener Therapie. ICG-positive maligne Tumoren zeigten in allen Fällen eine persistierende ICG-Retention (Pooling) über die Videodauer und waren im NIR/ICG-Modus gleich groß oder größer als unter WLE. Im Vergleich zu benignen Raumforderungen waren auf der Oberfläche maligner Tumoren keine normalen, sondern bei entsprechender Vergrößerung abnorme, punktförmige Gefäße sichtbar. SPIES schien der NIR/ICG-Endoskopie bei der Beurteilung oberflächlicher Gefäßstrukturen überlegen. Hyperkeratotische Befunde, wie Leukoplakien waren in jedem Fall ICG-negativ und wiesen keine Gefäße auf. Komplikationen der NIR/ICG-Endoskopie wurden nicht beobachtet und es ergab sich bis auf die Zeit der Videoaufzeichnung von im Durchschnitt 3 Minuten keine Verzögerung des routinemäßigen Operationsablaufes.

Zusammenfassend war die NIR-Endoskopie mit ICG bei allen Patienten durchführbar. Die diagnostische Sicherheit maligne Tumoren mittels ICG-Positivität vorausszusagen war befriedigend. Die Methode kann in vivo eine Hilfe zur Differenzierung benignen und malignen Befunde im Kopf-Hals-Bereich sein und hat somit das Potenzial die derzeitige Standarddiagnostik der WLE zur Diagnose und Nachsorge von malignen Kopf-Hals-Tumoren zu unterstützen sowie im Rahmen einer ICG image-guided tumor surgery Anwendung zu finden. Allerdings stellen die oben genannten falsch-positiven und falsch-negativen Ergebnisse bisher Limitationen des Verfahrens dar. Ob durch eine ICG-image-guided tumor surgery eine höhere Rate von R0-Resektionen und ein funktionell besseres tumorchirurgisches Outcome erzielt werden kann, muss in größeren Studien systematisch aufgearbeitet werden. Im Fokus zukünftiger Forschung scheint auch besonders die (Weiter-) Entwicklung von tumorspezifischen Antikörpern, welche mit NIR-Fluorochromen konjugiert werden, zu stehen. Dies könnte Sensitivität und Spezifität sowie Kontrast der Fluoreszenzbildgebung bei soliden Kopf-Hals-Tumoren weiter verbessern.

2. Einleitung

2.1. Relevanz maligner Kopf-Hals-Tumoren

Krebserkrankungen des Kopf-Hals-Bereichs stehen an 6. Stelle der häufigsten Krebserkrankungen und sind für jährlich mehr als 500.000 Krebsneuerkrankungen und bis zu 350.000 Todesfällen weltweit verantwortlich (Parkin et al. 2005, Marur und Forastiere 2016). Der Terminus Kopf-Hals-Tumor wird in dieser Arbeit für Plattenepithelkarzinome, welche vom Epithel der Schleimhautausräumung von Mundhöhle, Oropharynx, Hypopharynx und Larynx ausgehen verwendet. Tumoren des Nasopharynx, der Speicheldrüsen, der Haut und sinunasale Tumoren sind hier ausgeschlossen, sofern nicht explizit erwähnt, da diese andere Charakteristika aufweisen. Das Plattenepithelkarzinom repräsentiert dabei mit mehr als 90% die mit Abstand häufigste histologische Entität dieser Tumoren (Marur und Forastiere 2008).

Seit langem anerkannte Hauptrisikofaktoren für Kopf-Hals-Tumoren sind Nikotin- und Alkoholgebrauch, welche einen synergistischen Effekt haben (Hashibe et al. 2009). Regionale Unterschiede beziehungsweise Verschiebungen der Tumorzinzidenz spiegeln dabei direkt die Verbreitung dieser Risikofaktoren wieder (Parkin et al. 2005). So stellt beispielsweise das sogenannte Betelnusskauen den Hauptrisikofaktor für Mundhöhlenkarzinome in Taiwan, Indien und deren Nachbarländern dar (Torre et al. 2015). Ein weiterer relevanter Faktor ist die Infektion mit dem onkogenen humanen Papillomavirus (HPV). Diese Tumorentität nimmt eine gewisse Sonderstellung ein und ist besonders bei Nichtrauchern mit einer besseren Prognose assoziiert (Hoffmann et al. 2018). Nichtsdestotrotz wird eine Therapie-Deeskalation dieser Tumoren bisher nur theoretisch diskutiert und die Inzidenz dieser HPV-assoziierten Plattenepithelkarzinome bei jungen Erwachsenen nimmt in den entwickelten Ländern dramatisch zu. So konnte in den USA zwischen 1988 und 2004 eine Zunahme HPV-positiver Oropharynxkarzinome um 225% verzeichnet werden (Pytynia et al. 2014). Einige Autoren postulieren eine scharfe Trennung zwischen HPV-positiven und HPV-negativen Tumoren bezüglich Klassifikation und klinischer Herangehensweise (Marur und Forastiere 2016). Sofern nicht explizit erwähnt wird in der hier beschriebenen Arbeit keine HPV-Unterteilung vorgenommen, da das makroskopische Erscheinungsbild der Tumoren untersucht wurde.

Das mittlere Patientenalter bei Diagnosestellung dieser Tumoren liegt in den frühen 60er Lebensjahren und Männer sind generell deutlich häufiger, speziell beim Larynxkarzinom (Geschlechtsverteilung bis zu 7:1), betroffen (Parkin et al. 2005). Die gemittelte 5-Jahresüberlebensrate beträgt etwa 60% (Kim et al. 2011), variiert jedoch zwischen den

genannten Unterregionen (Mundhöhle, Oro-, Hypopharynx und Larynx) teils erheblich. Besonders das Hypopharynxkarzinom hat mit bis zu 25% eine sehr schlechte Prognose (Berrino et al. 2007). Trotz enormer Entwicklungen neuer, effektiver Therapiemodalitäten ist bisher leider noch keine signifikante Reduktion der tumorassoziierten Mortalität absehbar (Olsen et al. 2008). Des Weiteren haben Kopf-Hals-Tumoren selbst und deren Behandlung in der Regel erhebliche Auswirkungen auf lebensqualitätsbeherrschende Funktionen. Dysphagie, Gewichtsverlust, Schmerzen, Sprechstörungen, Xerostomie, Mukositis, Fatigue, Riech-, Geschmacksbeeinträchtigung, kosmetische Entstellung und Beeinträchtigung des Soziallebens treten besonders im 1. Jahr der Erkrankung häufig auf (Wissinger et al. 2014).

Lokoregionäre Rezidive fortgeschrittener Tumoren nach kurativer Behandlung haben eine sehr schlechte Prognose mit 5-Jahresüberlebensraten von nur 10% und treten in 30% - 50% der Fälle, meist in den ersten 2 Jahren, auf (Zenga et al. 2018). Dies wird mit der sogenannten Feldkanzerisierung in Zusammenhang gebracht. Dieser Begriff beschreibt die genetische Alteration flächiger Schleimhautbereiche um und fern vom Primärtumor und wurde erstmals 1953 von Slaughter beschrieben (Slaughter et al. 1953). Diese prä malignen Felder unterscheiden sich visuell unter Weißlicht nicht unbedingt von gesundem Gewebe und werden bei chirurgischer Exzision in mindestens 35% der Fälle nicht komplett entfernt (Tabor et al. 2001). Ryser et al. stellten ein stochastisches Rechenmodell zur räumlichen Berechnung prä maligner Felder vor, jedoch erfordert die akkurate Diagnose eines Feldes bislang multiple systematische Biopsien (Ryser et al. 2016). In Abbildung 1 wird die Feldkanzerisierung schematisch demonstriert.

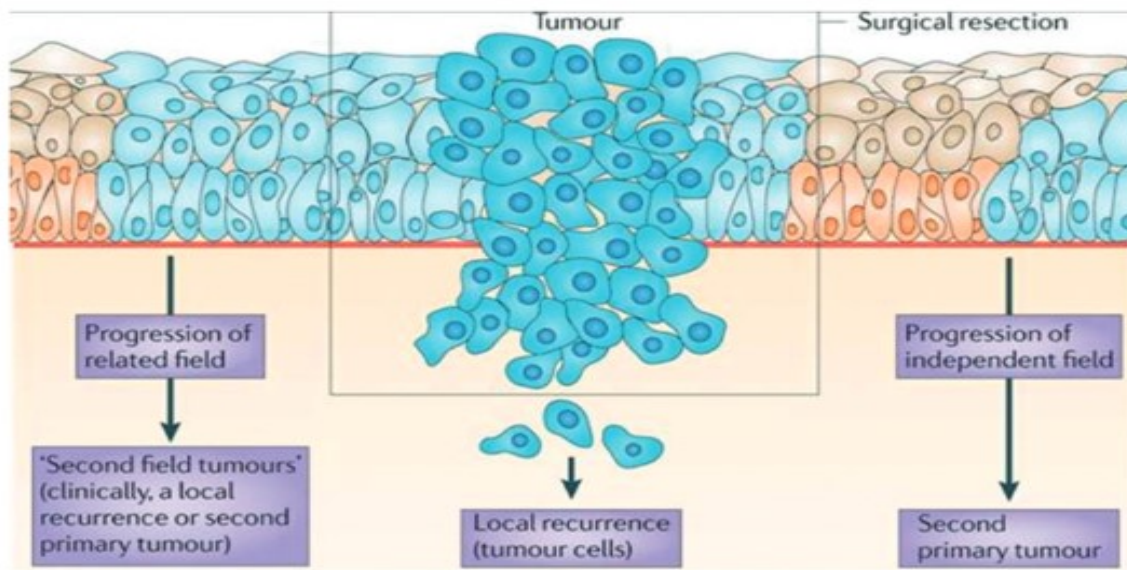


Abb. 1: Feldkanzerisierung und Lokalrezidiv. Das Verhältnis von Feldkanzerisierung und verschiedenen Arten eines Tumorrezidivs wird schematisch dargestellt. Auf Basis molekularer Forschungsergebnisse wird die Feldkanzerisierung mit dem Vorliegen einer oder mehrerer Schleimhautregionen, welche Tumor-assoziierte genetische oder epigenetische Veränderungen aufweisen definiert. Ein sogenanntes Vorläuferfeld (*hellblau*) ist monoklonalen Ursprungs und zeigt kein invasives Wachstum und keine Metastasierung, welche die klassischen Merkmale des Karzinoms sind. Ein solches Feld ist definitionsgemäß prä-neoplastisch und kann, muss aber nicht zwingend auf histologischer Ebene eine Dysplasie aufweisen. Eine Leukoplakie ist die klinische Manifestation eines Feldes, jedoch sind die meisten Felder klinisch unauffällig. Eine wichtige klinische Implikation eines solchen Feldes ist, dass es Ursprung eines lokoregionären Rezidivs oder eines Zweittumors nach chirurgischer Resektion des Ersttumors sein kann. Diese zwei Möglichkeiten können klinisch aufgrund des Abstandes ($\leq 2\text{cm}$) zum Ersttumor und/oder des Zeitraumes des Auftretens (≤ 3 Jahre) nach Ersttumor unterschieden werden. Feld und Primärtumor weisen identische genetische Aberrationen auf und sollten als klonal identischen Ursprungs betrachtet werden. Weitere genetische Veränderungen sind erforderlich für eine Karzinomentstehung. Tumoren, welche von einem nicht-resezierten Feld ausgehen werden im Gegensatz zu wahren lokalen Rezidiven (welche von verbliebenen Tumorzellen ausgehen) oder wahren Zweittumoren (welche einen gänzlich unabhängigen Ursprung vom Primärtumor haben) als „second field tumor“ bezeichnet. Obwohl mehrere Tumor-assoziierte Gene bekannt sind ist noch unklar welche spezifischen genetischen Veränderungen das Risiko der Krebsentwicklung in einem Feld bestimmen. Abbildung aus: (Leemans et al. 2011).

2.2. Karzinogenese und prämale Läsionen

Die Feldkanzerisierung führt neben lokoregionären Rezidiven zu präneoplastisch veränderten Schleimhautbereichen des gesamten Aerodigestivtrakts und betroffene Patienten haben ein Risiko von etwa 20% an Zweittumoren in diesem Bereich zu erkranken (Leoncini et al. 2015). Es ist bekannt, dass verschiedene molekulargenetische Veränderungen wie beispielsweise die Mutation des Tumorsuppressorgens TP53 oder des Onkogens epidermal growth factor receptor (EGFR) bei Plattenepithelkarzinomen des Kopf-Hals-Bereiches eine Rolle in der Karzinogenese spielen (Sturgis et al. 2004, Marur und Forastiere 2008). Eine Vielzahl wissenschaftlicher Arbeiten beschäftigt sich mit der Identifikation der spezifischen molekulargenetischen Veränderungen bei Plattenepithelkarzinomen im Kopf-Hals-Bereich. Einige bekannte Aberrationen sind CDKN2A, HPV E6/E7, PIK3CA, PTEN, SMAD4, MET, CCND1 (Leemans et al. 2011). Erst die Akkumulation mehrerer solcher Mutationen führt letztlich zur Störung des Zellzyklus, der Apoptose und/oder der Zelldifferenzierung mit Ausbildung eines invasiven Plattenepithelkarzinoms. Das Profil dieser genetischen Aberrationen unterscheidet sich bei HPV-positiven und HPV-negativen Tumoren, wobei letztgenannte dabei eine größere Variabilität aufweisen (Hammerman et al. 2015). Ziel derzeitiger Forschung ist es letztlich auf Basis dieses Wissens nach Cetuximab (EGFR-spezifischer Antikörper) weitere effektive zielgerichtete Therapien zur Behandlung dieser Tumoren zu entwickeln.

Auf histopathologischer Ebene werden nicht invasive, morphologisch oft unauffällige Vorläuferläsionen des Plattenepithelkarzinoms nach der WHO-Klassifikation 2005 als intraepitheliale Neoplasie (Squamous intraepithelial Neoplasia, SIN) beschrieben. Es erfolgt die Einteilung in Plattenepithelhyperplasie, gering-, mäßig- und hochgradige intraepitheliale Neoplasie (SIN 1-3) je nach Ausprägung der Störung der Epithelarchitektur. Die hochgradige intraepitheliale Neoplasie (SIN 3) ist gleichbedeutend mit einem Carcinoma in situ (CIS).

In der Literatur ist die maligne Progression prämaligener Läsionen wie folgt beschrieben:

1. Plattenepithelhyperplasie 0–3%
2. geringgradige Dysplasie (SIN I) 0–30%
3. mäßiggradige Dysplasie (SIN II) 0–44%
4. hochgradige Dysplasie (SIN III) 20–57%
5. Carcinoma in situ (CIS) 0–80%

(Fleskens und Slootweg 2009).

Es ist zu erwähnen, dass die WHO Klassifikation 2017 mit einigen Änderungen überarbeitet wurde und weitere pathologische Klassifikationssysteme wie unter anderem die Ljubljana Klassifikation existieren, welche beispielsweise SIN 3 und Carcinoma in situ trennen beziehungsweise eine binäre Einteilung dysplastischer Läsionen in high-risk und low-risk vertreten (Gale et al. 2017). Liu et al. beschrieben in dem Zusammenhang ein 4,5-mal höheres Entartungsrisiko von high-risk Dysplasien im Vergleich zu low-risk Dysplasien (Liu et al. 2010). In dieser Arbeit werden die pathologischen Ergebnisse entsprechend der beschriebenen, zum Untersuchungszeitpunkt gültigen WHO-Klassifikation 2005 dargestellt.

Ein Plattenepithelkarzinom kann auch aus makroskopischen Präkanzerosen wie beispielsweise Leukoplakien oder Erythroplakien hervorgehen. Es besteht allgemeiner Konsens, dass solche Läsionen aufgrund ihres potentiellen Entartungsrisikos chirurgisch entfernt oder zumindest histologisch abgeklärt werden sollten. Die Entartungsrate dieser weißlichen bzw. rötlichen, nicht abwischbaren Schleimhautveränderung ist im individuellen Fall klinisch sehr schwer abschätzbar. Lee et al. beschrieben bei 218 Patienten mit einer oralen Leukoplakie eine Krebsmanifestation in 31.4% der Fälle über einen 10-jährigen Beobachtungszeitraum (Lee et al. 2000). Allerdings entwickelten 41% dieser Patienten ein Karzinom abseits der Leukoplakie, was wahrscheinlich wiederum auf die Feldkanzerisierung zurückzuführen ist. Die rein klinische Diagnose einer Leukoplakie muss mittels Biopsie histologisch verifiziert werden. Bislang hat sich kein alternatives diagnostisches Verfahren zum Gold-Standard der Histologie im klinischen Alltag etabliert. Visuell (unter Weißlicht) kann kein verlässlicher Rückschluss auf Dignität beziehungsweise Dysplasiegrad gezogen werden. Genau dies ist jedoch für die Prognose und therapeutisches Management die entscheidende Frage (Diajil et al. 2013). Neue optische Verfahren, welche eine tumorspezifische Fluoreszenz generieren, könnten bei der Risikostratifizierung präaligner Schleimhautläsionen eine enorme Hilfe sein.

2.3. Diagnostik maligner Kopf-Hals-Tumoren

Im Durchschnitt werden 2 von 3 Kopf-Hals-Plattenepithelkarzinomen erst im fortgeschrittenen Stadium und somit per se schlechter Prognose diagnostiziert (Argiris et al. 2008, Marur und Forastiere et al. 2008). Relativ lange symptomarme Zeitspannen, die Feldkanzerisierung und der schwierige diagnostische Zugang zu einigen Unterregionen wie Zungengrund, Hypopharynx und Larynx sind mögliche Ursachen der Schwierigkeit Kopf-Hals-Karzinome in früheren Stadien zu detektieren.

Eine flächendeckende Vorsorgeuntersuchung für Kopf-Hals-Tumoren existiert in Deutschland nicht. Allerdings sollen sogenannte red flag Symptome wie über 3 Wochen anhaltende Dysphonie, Halslymphknotenvergrößerung, Raumforderungen oder Ulzerationen des Mund-, Rachenbereichs (National Institute for Health and Care Excellence, NICE Head and neck cancers - recognition and referral) den erstversorgenden Arzt, meist Hausarzt, zu einer umgehenden Zuweisung des Patienten zu einem Hals-Nasen-Ohrenfacharzt veranlassen.

Nach gründlicher Anamnese mit Abfragen der oben genannten Symptome und möglicher Risikofaktoren wird in der HNO-fachspezifischen Spiegeluntersuchung ein kompletter HNO-Status erstellt. Entscheidend ist die Inspektion sämtlicher Schleimhäute des oberen Aerodigestivtraktes sowie Inspektion und Palpation der Halslymphknoten. Die indirekte Laryngoskopie kann durch direkte Untersuchungen (flexible, transnasale oder starre Endoskopie) sowie Videostroboskopie ergänzt werden. Standard bei der endoskopischen und mikroskopischen Untersuchung ist ausschließlich die Betrachtung mit Weißlicht. Ziel ist es damit eine möglichst exakte Arbeitsdiagnose, wenn möglich mit klinischem TNM Stadium zu erstellen. Besteht Verdacht auf eine maligne Raumforderung sind geeignete bildgebende Verfahren, in der Regel eine Sonografie der Halsweichteile, Computertomografie (CT) von Hals und Thorax mit Kontrastmittel, ggf. Magnetresonanztomografie (MRT) oder Positronen-Emissions-Tomographie (PET) zu veranlassen.

Der Verdacht auf eine maligne Raumforderung erfordert außerdem eine schnelle histologische Sicherung des Befundes. Dies erfolgt in der Regel im Rahmen einer Panendoskopie mit Biopsie unter Vollnarkose. Folgender Ablauf der diagnostischen Panendoskopie hat sich hierzu etabliert:

1. Bronchoskopie (starr/flexibel)
2. Ösophagoskopie (starr/flexibel)
3. (Mikro-)Laryngoskopie
4. Hypopharyngoskopie
5. Oropharyngoskopie
6. Nasopharyngoskopie.

Dieses spezielle Procedere dient neben der histologischen Sicherung dem Erkennen des exakten Tumorausmaßes (T-Stadium), der Einschätzung der Operabilität und dem Ausschluss eines Zweitkarzinoms des Aerodigestivtraktes. Solche Zweitkarzinome bei Patienten mit Plattenepithelkarzinomen des Kopf-Hals-Bereiches sind von erheblicher Relevanz, da sie in etwa 20% der Fälle auftreten (Wolff et al. 2013, Leoncini et al. 2015) und die Prognose sowie klinisches Management entscheidend beeinflussen können.

Die Tumorklassifikation erfolgt anhand der 8. Ausgabe des UICC (Union internationale contre le cancer)/AJCC (American Joint Committee on Cancer) TNM Systems bestehend aus den drei Komponenten:

1. Ausmaß des Primärtumors und Invasion angrenzender Strukturen (T)
2. Vorhandensein, Anzahl und Größe regionaler Lymphknotenmetastasen (N)
3. und dem Vorhandensein von Fernmetastasen (M).

Die Bestimmung des TNM Stadiums erfolgt klinisch, anhand von Bildgebung und des histopathologischen Resultats nach chirurgischer Exzision. Diese einheitliche Stadieneinteilung gibt Auskunft über die Prognose und bestimmt die Therapieplanung.

Bestätigt sich die Verdachtsdiagnose eines Plattenepithelkarzinoms histologisch wird der Fall nach Komplettierung der Diagnostik („Staging“) in einem multidisziplinären Tumorboard (beteiligt sind in der Regel: Kopf-Hals-Chirurg, Onkologe, Strahlentherapeut, Kieferchirurg, Logopäde, etc.) diskutiert.

Die Tumornachsorge nach abgeschlossener Therapie beinhaltet neben Anamnese die regelmäßige klinische HNO-fachspezifische Untersuchung, Sonografie der Halsweichteile, ggf. weitere bildgebende Verfahren und die Evaluation therapiebedingter Funktionsbeeinträchtigungen. Die Nachsorge erfolgt innerhalb des ersten Jahres jeden 3. Monat, im Jahr 2-5 nach Behandlung jeden 4.-6. Monat, danach jährlich. Dieses Procedere ist in den meisten Tumorzentren etabliert (Leitlinien der Krebsgesellschaft Kopf-Hals Tumore, The National Institute for Health and Care Excellence, NICE guidelines head and neck cancer, Universitätsklinikum Freiburg).

Die visuelle, endoskopische und/oder mikroskopische Beurteilung der Schleimhäute unter Weißlicht, sowie Biopsie mit anschließender histopathologischer Diagnostik stellt den Goldstandard dar. Ersteres ist abhängig von der Erfahrung des Untersuchers und Zweiteres ist ein invasiver Eingriff für den Patienten. Des Weiteren ist die pathologische Untersuchung ex vivo zeitaufwändig, teuer und hat aus verschiedenen Gründen methodische Limitationen (Hinni et al. 2012, Fleskens und Slootweg 2009). Der Tumor zeigt sich optisch typischerweise als exophytische oder ulzerierende Raumforderung mit unregelmäßigen Grenzen. Aufgrund der Feldkanzerisierung liegt häufig ein Übergang zwischen gesunden, chronisch entzündeten, dysplastischen und malignen Schleimhautregionen vor, welche optisch schwierig voneinander abgrenzbar sind. In frühen Tumorstadien ist die Tumordetektion selbst oft schwierig und bei fortgeschrittenen Tumoren ist die Erkennung der Tumorgrenzen eine Herausforderung. In der Tumornachsorge ist der Arzt mit vorbehandelten Patienten konfrontiert und hat die Aufgabe narbige und/oder bestrahlte Areale von einem möglichen Tumorreizidiv zu unterscheiden.

Aus diesen Gründen sind non-invasive oder zumindest weniger invasive optische Verfahren notwendig, welche in vivo einen schnellen, besseren visuellen Kontrast zwischen Tumor und Normalgewebe (Tumor-to-Background-Ratio) bieten.

2.4. Rolle der chirurgischen Therapie und Resektionsgrenzen bei malignen Kopf-Hals-Tumoren

Die Therapieoptionen bei Kopf-Hals-Tumoren sind vielfältig und es sind in der Regel Spezialisten verschiedener Fachdisziplinen (Kopf-Hals-Chirurg, Onkologe, Strahlentherapeut, Radiologe, Kieferchirurg, Logopäde, etc.) in einem multidisziplinären Behandlungsteam involviert. Generell stehen zur Behandlung die Chirurgie, Radiotherapie, Chemo-(immuno)therapie und deren Kombinationen zur Verfügung.

Die Therapieentscheidung wird abhängig von Tumorlage, Tumorstadium, histologischem Ergebnis, patientenbedingten Faktoren (Allgemeinzustand, Komorbiditäten, Narkosefähigkeit, Patientenwunsch, etc.) sowie Expertise und Präferenz des jeweiligen Tumorzentrums getroffen. Generell unterscheidet man kurative Monotherapien (Chirurgie oder Radiotherapie) in frühen Tumorstadien (I, II nach UICC) von multimodalen Behandlungskonzepten bei fortgeschrittenen Tumoren (Stadium III, IV nach UICC). Die kurative Therapie fortgeschrittener Tumoren besteht oft aus einer Kombination von chirurgischer Exzision und postoperativer Radiotherapie mit simultaner Cisplatin oder alternativ Cetuximabgabe oder einer primären Radiochemotherapie (Argiris et al. 2008). Das Vorhandensein multipler, großer regionaler Halslymphknotenmetastasen sowie eine extrakapsuläre Tumorausbreitung sind mit einer schlechteren Prognose assoziiert und Indikationen für eine post-operative Radio(chemo)therapie des Halses (Wreesmann et al. 2016, Paleri et al. 2016). Bei Tumorresiduen nach multimodaler Therapie spielt unter Umständen die Salvage-Chirurgie eine Rolle (Paleri et al. 2016, Zenga et al. 2018). Patienten mit Fernmetastasen oder rezidierten, nicht kurativ behandelbaren Tumoren können palliativ therapiert werden (Ernst und Strieth 2017). Hierzu stehen als medikamentöse first-line Behandlung das EXTREME-Schema (Cisplatin, 5-Fluorouracil und Cetuximab) und second-line Behandlungen (Methotrexat, Docetaxel, PD-1-Antikörper wie Nivolumab und weitere zielgerichtete molekulare Therapien im Rahmen von Studien) zur Verfügung (Ernst und Strieth 2017). Abbildung 2 demonstriert schematisch die Diagnostik und Therapie von Kopf-Hals-Tumoren.

Kopf-Hals-Tumore

Mundhöhle, Pharynx, Larynx

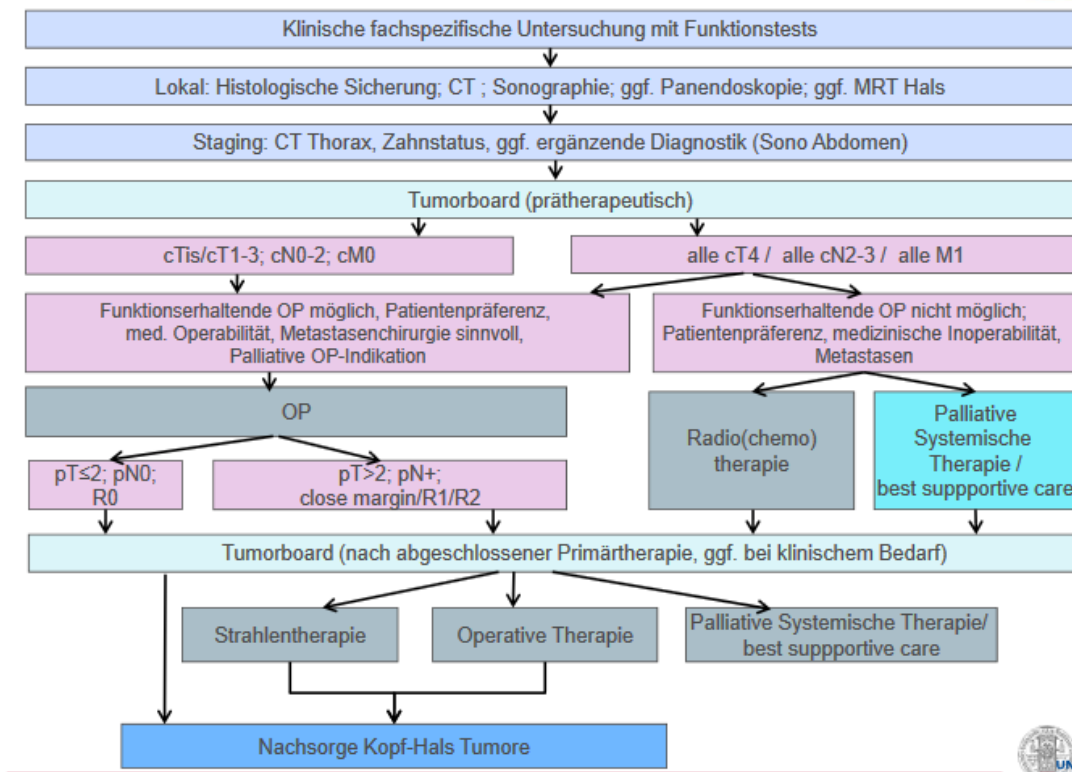


Abb. 2: Leitfaden Kopf-Hals-Tumoren des Tumorzentrum des Universitätsklinikum Freiburg. Abbildung aus: https://www.uniklinik-freiburg.de/fileadmin/mediapool/09_zentren/cccf/pdf/Pathways/Pathway_Kopf-Hals-Tumore.pdf.

Die gesamte Komplexität dieser Therapiemodalitäten ist nicht Gegenstand dieser Arbeit, jedoch sind gewisse Aspekte bei der chirurgischen Herangehensweise besonders für den Kopf-Hals-Chirurgen relevant. Funktionelle Aspekte wie Schluckfunktion und Sprache, die chirurgische Zugänglichkeit sowie die Perspektive tumorfreie Resektionsränder zu erzielen sind wichtige Faktoren der präoperativen Planung und stehen oft in reziprokem Verhältnis zueinander. In frühen Tumorstadien (T1, T2) ist die chirurgische Therapie elementarer Bestandteil und besonders im deutschsprachigen Raum in den meisten Zentren Standard. Bei fortgeschrittenen Stadien (T3, T4) ist eine operative Therapie unter Umständen möglich gefolgt von einer Radiochemotherapie. Neben konventionellen offenen Verfahren sind besonders laserchirurgische Verfahren mit dem CO₂ Laser und die Transorale Roboterchirurgie (TORS) mittlerweile integraler Bestandteil der modernen Kopf-Hals-Tumorchirurgie.

Theodor Billroth führte am Silvesterabend 1873 notfallmäßig die erste Laryngektomie durch und die totale Laryngektomie stellt noch heute ein etabliertes Verfahren zur sicheren Therapie ausgedehnter Larynx- und Hypopharynxkarzinome dar (Mozet und Dietz 2010). Weiterhin wurden verschiedene Arten vertikaler und horizontaler Kehlkopfteilresektionen von außen beschrieben, welche in speziellen Situationen indiziert sind und detailliert in entsprechenden Operationslehren ausgeführt sind. Die transorale Laser-Mikrochirurgie mit dem CO₂ Laser hat die Behandlung von exponierbaren Larynx- und Hypopharynxkarzinomen in den letzten Jahrzehnten revolutioniert. Wolfgang Steiner zeigte 1993 erstmals, dass somit besonders T1- und T2 Glottiskarzinome und unter Umständen auch fortgeschrittene Larynxkarzinome sicher kurativ behandelt werden können (Steiner 1993). Die Vorteile der Laserchirurgie beispielsweise gegenüber einer primären Radiotherapie liegen in der kurzen Behandlungszeit, einem zuverlässigen Erhalt von Schluckfunktion und Atemweg ohne Tracheotomie, einer akzeptablen postoperativen Stimmleistung und sie hält sämtliche Therapieoptionen für den Rezidivfall offen.

Mundhöhlen- und Oropharynxkarzinome können konventionell chirurgisch transoral, durch transmandibuläre oder transzervikale Zugänge entfernt werden. Auch hier kommt die transorale Laserchirurgie insbesondere bei umschriebenen T1 und T2-Karzinomen zum Einsatz (Holsinger und Ferris 2015, Jerjes et al. 2012). Die Transorale Roboterchirurgie (TORS) mit dem Da-Vinci-Telemanipulator (Intuitive Surgical) spielt eine zunehmende Rolle besonders zur minimalinvasiven Therapie resektabler, gut einstellbarer Oropharynxkarzinome. Eine große multizentrische Studie konnte für dieses neue operative Verfahren eine 91.8%ige lokoregionäre Tumorkontrolle in den ersten 2 Jahren bei niedriger Komplikationsrate nachweisen (de Almeida et al. 2015).

Die Indikationsstellung des geeigneten chirurgischen Verfahrens erfordert in jedem Fall besonders hohe chirurgische Expertise und ist oft fließend. Unabhängig vom Operationsverfahren ist die vollständige Tumorentfernung mit tumorfreien Resektionsrändern (R0-Resektion) das angestrebte Ziel der Chirurgie (The National Comprehensive Cancer Network, NCCN guidelines). Tumorfreie Resektionsränder sind von entscheidender Bedeutung für die Festlegung der adjuvanten Therapie und der wichtigste, durch den Chirurgen beeinflussbare prognostische Marker. Von den meisten Chirurgen wird eine Tumorsektion mit ≥ 5 mm Sicherheitsabstand als adäquat angesehen (Dillon et al. 2015) mit Ausnahme der Glottis, wo in der Regel Abstände von 1-2 mm akzeptiert werden (Hartl et al. 2007). Gelingt die Tumorsektion mit ausreichendem Abstand ist mit einer signifikant

niedrigeren lokoregionären Rezidivrate sowie höherer 5-Jahresüberlebensrate zu rechnen (Baddour et al 2016). Des Weiteren sind in dem Zusammenhang auch eine hochgradige Dysplasie am Tumorsektionsrand sowie die Tiefenausdehnung des Tumors prognostisch relevante Faktoren (Müller 2017).

Leider variiert die Definition und methodische Herangehensweise in Bezug auf adäquate Tumorsektionsränder. Der Chirurg beurteilt die Tumorausdehnung anhand präoperativer Bildgebung (CT, MRT, etc.) und intraoperativ optisch unter Weißlicht transoral, endoskopisch und/oder mikroskopisch sowie gegebenenfalls palpatorisch. Es existiert diesbezüglich keine uniforme Standardisierung, was zu einer gewissen Subjektivität speziell bei Resektion im Tumorrandbereich führt (Hinni et al. 2012) und in etwa 23% der Fälle sind die Resektionsränder histopathologisch Tumor positiv (Woolgar und Triantafyllou 2005). Da die exakte Bestimmung der Tumorgrenzen mit konventionell visuellen Methoden Limitationen aufweist wird häufig auf das sogenannte Schnellschnittverfahren zurückgegriffen. Dieses Verfahren ist jedoch zeitaufwändig, verlängert die Narkosezeit für den Patienten und birgt mehrere potentielle Fehlerquellen. Man unterscheidet hierbei die Hauptpräparat- und Tumorbett orientierte Methode. Die 3-dimensionale Anatomie erfordert in jedem Fall akkurate Markierung und Beschreibung des Präparates in Zusammenarbeit mit dem Pathologen mit dezidiert Nachresektion bei positivem Ergebnis. Dabei wird die histologische Aussagekraft unter Umständen durch Artefakte wie Verbrennungen des Präparats durch Laser oder Elektrokaustik beeinträchtigt (Hinni et al. 2012, Makki et al. 2014). Im Falle positiver Tumorgrenzen sind in den meisten Fällen die tiefen Tumorgrenzen betroffen (Shah 2018). Dies liegt möglicherweise daran, dass es mit konventionell visuellen Methoden noch schwieriger ist Tumor submukös von gesundem Gewebe zu unterscheiden als es schon auf Ebene der Mukosa ist.

Neue optische Verfahren, die intraoperativ eine bessere, sichere, kontinuierliche Kontrastierung zwischen Tumor und Normalgewebe bieten sind notwendig um das Outcome der chirurgischen Tumorthherapie (Rate der R0-Resektionen) zu verbessern. Dies könnte dem Chirurgen eine Hilfe bei der Erkennung der Tumorausdehnung, der oberflächlichen und evtl. tiefen Tumorgrenzen sein und verbliebene Tumoranteile nach Resektion visualisieren, so dass eine Nachresektion in derselben OP erfolgen kann. Potentiell könnte dies die histopathologische Diagnostik unterstützen und dem Patienten zweizeitige Nachresektionen unter Vollnarkose und/oder eine Nachbestrahlung ersparen. Nicht zuletzt könnte damit die Operationszeit verkürzt werden und mehr Rücksicht auf den Erhalt funktionell wichtiger

anatomischer Regionen gelegt werden um eine bessere Lebensqualität zu erhalten ohne die Gefahr Tumor zurückzulassen.

2.5. Nahinfrarot (NIR)-Fluoreszenz mit Indocyaningrün (ICG)

Im Jahr 1852 beschrieb George Gabriel Stokes das Mineral „Fluorit“, das nach Bestrahlung blaues Licht emittiert (Stokes 1852). Er benannte das Phänomen „Fluoreszenz“ und die mit dieser Fähigkeit ausgestatteten Substanzen „Fluorophore“. Die Fähigkeit zu fluoreszieren kommt in der Natur häufig vor. Hierfür verantwortlich ist die Energieaufnahmefähigkeit delokalisierten Elektronen in aromatischen Ringstrukturen. Die absorbierte Lichtenergie versetzt die delokalisierten Elektronen in einen höheren Energiezustand. Beim Zurückfallen der Elektronen in den Grundzustand geben sie die aufgenommene Lichtenergie als Fluoreszenz ab. Dabei ist das abgegebene Fluoreszenzlicht energieweicher als die aufgenommene „anregende“ Licht-Energie, da ein Teil als Wärme verloren geht. Das Prinzip der Fluoreszenz wird in Abb. 3 dargestellt.



Abb. 3: Schematisch vereinfachte Darstellung des Prinzips der Fluoreszenz (Endo Press ® GmbH „Nahinfrarot-Endoskopie mit Indocyaningrün in der HNO-Heilkunde“ 2016).

Aromatische Ringstrukturen sind Hauptbestandteile vieler biologischer Substanzen wie z. B. Desoxyribonukleinsäure (DNS, Träger der Erbinformation), Proteine und Zucker. Seit den 1960er Jahren wird ihre Fähigkeit zur Fluoreszenz in der Medizin für die Fluoreszenz-Bildgebung eingesetzt (Nagaya et al. 2017). Der älteste bekannte Nahinfrarot (NIR)-Fluoreszenz-Farbstoff der Medizin ist Indocyaningrün (nachfolgend ICG). ICG ist ein grünes steriles wasserlösliches Tricarbocyanin. Es enthält $\leq 5,0\%$ Natriumiodid. Auf chemischer Ebene handelt es sich um ein 1,7-Bis[1,1-dimethyl-3-(4-sulfobutyl)-1H-benz[e]indol-2-yl]heptamethinium-betain Natriumsalz mit einer molaren Masse von $774,99 \text{ g} \cdot \text{mol}^{-1}$. Die Summenformel von ICG lautet $\text{C}_{43}\text{H}_{47}\text{N}_2\text{NaO}_6\text{S}_2$. Abb. 4 zeigt die Strukturformel von ICG.

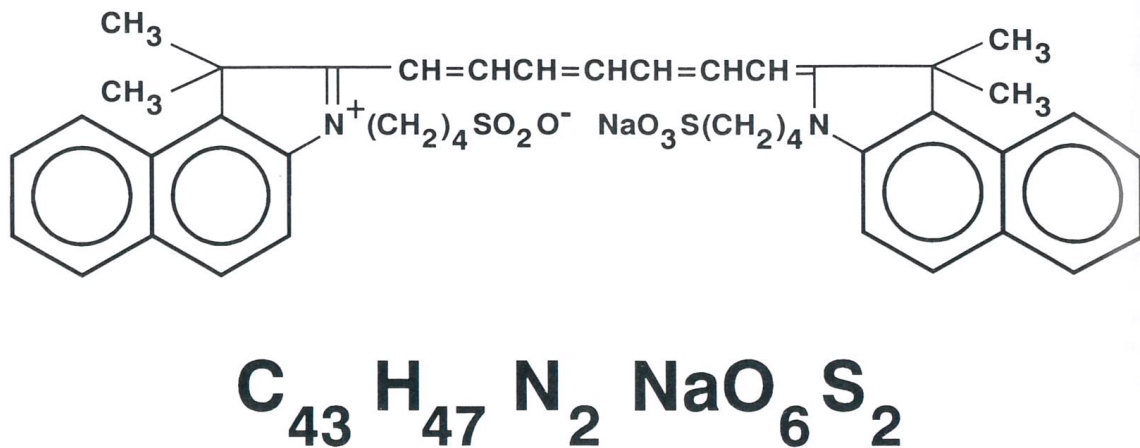


Abb. 4: Strukturformel von Indocyaningrün. Aus: (Hope-Ross et al. 1994).

ICG ist ein Arzneimittel, das von der FDA (amerikanische Food and Drug Administration) 1959 und der EMA (European Medicines Agency) zur Bestimmung von Herzzeitvolumen, Leberfunktionsdiagnostik und Angiografien in der Augenheilkunde zugelassen ist. Bei der Darstellung von Kopf-Hals-Tumoren handelt es sich um einen off-label use. ICG verfügt über ein Absorptionsmaximum von $\lambda_{\text{Ex}} = 805 \text{ nm}$ und ein Emissionsmaximum von $\lambda_{\text{Em}} = 835 \text{ nm}$. Somit ist ICG nur im Nahinfrarot Bereich sichtbar. Eine Übersicht der unterschiedlichen Wellenlängen des Lichts veranschaulicht Abb. 5.

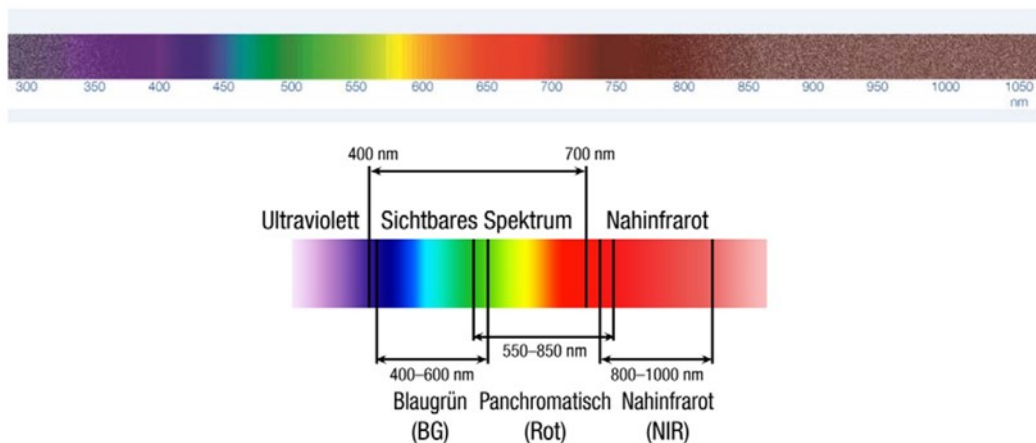


Abb. 5: Verhältnis zwischen Nahinfrarot (NIR) Bereich und dem sichtbaren Licht (Endo Press ® GmbH „Nahinfrarot-Endoskopie mit Indocyaningrün in der HNO-Heilkunde“ 2016).

Die Spektraleigenschaften von ICG im NIR-Lichtspektrum schließen störende Autofluoreszenz von Bluthauptbestandteilen (Hämoglobin und Wasser) aus. Hieraus resultiert eine Gewebedetektionstiefe für NIR-Fluoreszenz von mindestens 8 mm (van der Vorst et al. 2013), welche aber sehr wahrscheinlich abhängig von den optischen Eigenschaften des jeweiligen Gewebes und dem verwendeten NIR-Kamerasystem variiert. Nach der intravenösen Injektion bindet sich ICG an Plasmaproteine im Gefäßbett und kann visualisiert werden. Da NIR außerhalb des sichtbaren Lichts liegt, verändert das NIR Licht für den HNO-Chirurgen nicht das chirurgische Sichtfeld. Es handelt sich um ein non-targeted extrazelluläres Agens. ICG wird ausschließlich durch die Leber ausgeschieden, hat eine Halbwertszeit von 150-180 Sekunden und wird daher seit längerem zur Leberfunktionsdiagnostik genutzt (Kitano und Kim 1997). ICG hat nur ein geringes Gefahrenpotential und das Allergierisiko liegt bei $<1:10.000$ (Angabe des Herstellers). Fallberichte über schwere anaphylaktische Reaktionen nach i.v. ICG Gabe sind selten (Olsen et al. 1996). Die intravenöse Applikation von ICG (1-5mg/kg) im Rahmen von 1923 Videoangiographien in der Augenheilkunde ergab nur drei (0.15%) milde, vier (0.2%) mittelgradige und eine (0.05%) höhergradige unerwünschte Nebenwirkung (Hope-Ross et al. 1994).

Die Entwicklung optischer Fluoreszenz-Techniken mit Nahinfrarot (NIR) zur Diagnose, Behandlung und Nachsorge von Kopf-Hals-Tumoren, speziell Plattenepithelkarzinomen ist ein vielversprechendes Gebiet von wachsendem wissenschaftlichem Interesse. Es liefert Echtzeitinformationen über Vorhandensein, Lokalisation und Ausdehnung von Karzinomgewebe und/oder deren Metastasen durch die Entwicklung eines spezifischen Kontrasts zwischen normalem und karzinogenem Gewebe. Dieser Kontrast könnte das Resultat tumor-induzierter morphologischer und biochemischer Veränderungen sein, welche die optischen Eigenschaften von Geweben verändert und zu einer tumor-spezifischen Fluoreszenz führt. Es wird angenommen, dass neu formierte, porösere Blutgefäße sowie abnorme peritumorale lymphatische Strukturen der Tumoren für die verstärkten Permeabilität und Retention von Indocyaningrün verantwortlich sind (Schaafsma et al. 2011). Dieser Effekt kann zur Tumordiagnostik genutzt werden.

2.6. Klinische Anwendungen von ICG in der Onkologie

Die sogenannte fluorescence-guided surgery genießt in den letzten Jahren wachsendes Interesse in der Tumorchirurgie und die Anzahl jährlicher Publikationen zu dem Thema hat sich von 1995 bis 2015 verzehnfacht (Nagaya et al. 2017). Die Eigenschaft von ICG einen Kontrast zwischen normalem und karzinogenem Gewebe zu kreieren mit der Möglichkeit kleine Tumoren und Tumorgrenzen in vivo besser zu erkennen führte zu einer Vielzahl von klinischen Studien mit Anwendung in verschiedensten Fachgebieten der Medizin. Abbildung 6 zeigt den Anstieg der Veröffentlichungen zur fluorescence-guided surgery. Schon 1948 wurde die Fluoreszenztechnik erstmals in der Neurochirurgie zur intraoperativen Identifikation von Hirntumoren nach intravenöser Gabe von Fluoreszein von Moore beschrieben (Moore und Peyton 1948). Derzeit finden sich neben dem mit Abstand geläufigsten Agens ICG eine Anzahl weiterer Fluoreszenzfarbstoffe für ein weitreichendes Indikationsspektrum in der klinischen und präklinischen Anwendung. Tabelle 1 gibt einen Überblick über einige der geläufigsten Substanzen. Im Interesse derzeitiger und zukünftiger Forschung sind auch zielgerichtete Substanzen welche durch die Konjugation von Fluoreszenzagenzien wie ICG mit bestimmten Antikörpern, Peptiden oder Enzymen eine noch tumorspezifischere Fluoreszenz generieren sollen (Nagaya et al. 2017).

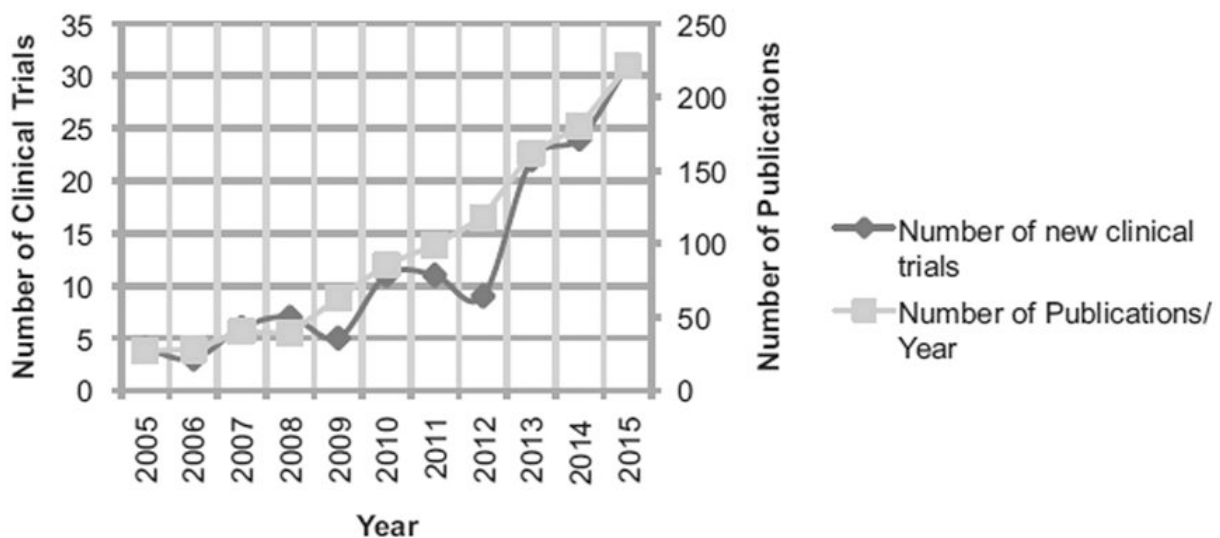


Abb. 6: Anzahl klinischer Studien und Publikationen pro Jahr zur fluorescence-guided surgery. Suchmethode für klinische Studien nach Schlüsselwörtern: “fluorescence,” “image-guided surgery,” und “near-infrared imaging”. Suchmethode für Publikationen nach Schlüsselwörtern im Titel/Abstract: “fluorescence imaging surgery” oder “fluorescence imaging resection” oder “fluorescence-guided surgery” oder “fluorescence guided resection”(Tipirneni et al. 2017).

Fluoreszenzfarbstoff	Eigenschaften	Anwendungsgebiet
Methylenblau (MB)	Absorptionsmaximum 670 nm Emissionsmaximum 690 nm Relevante Nebenwirkungen sind Herzrhythmusstörungen, Reduktion des Herzzeitvolumens, Erhöhung des Pulmonal arteriellen Drucks	Darstellung von Mammakarzinomen, neuroendokrinen, urologischen und Nebenschilddrüsentumoren, häufige Verwendung zum SLN mapping
5-Aminolävulinsäure (5-ALA)	Absorptionsmaximum 380-440 nm Emissionsmaximum 620 nm – in alkalischem, 634 nm saurem Milieu Hohe Kosten, Sensitivierung der Haut gegenüber Licht für 24 h	Photodynamische Therapie von dermalen Präkanzerosen, Basalzellkarzinomen, intraoperative Detektion von Gliomen sowie Harnblasen- und Prostatatumoren
Fluoreszein	Absorptionsmaximum 494 nm Emissionsmaximum 512 nm	Angiografien der Retina, Identifizierung von Hirntumoren und intrakranielle Angiografien
Folat-Fluoreszein-Isothiocyanat (folate-FITC)	Absorptionsmaximum 495 nm Emissionsmaximum 520 nm Bei Tumoren mit Folsäurerezeptorexpression	Darstellung von Ovarialkarzinomen, Adenokarzinomen der Lunge und Nierenzellkarzinomen
Cetuximab-IRDye800CW; Panitumumab-IRDye800CW	Absorptionsmaximum 775 nm Emissionsmaximum 796 nm EGFR Antikörper konjugiert mit Fluoreszenzagens	Spezifische Darstellung von Kopf-Hals-Tumoren

Tabelle 1. Übersicht derzeit in vivo verwendeter Fluoreszenzfarbstoffe neben ICG und deren Anwendungsgebiete (Nagaya et al. 2017). Abkürzungen: SLN, Sentinel Lymphknoten. EGFR, epidermal growth factor receptor.

Indocyaningrün ist aufgrund seiner Eigenschaften neoplastisches Gewebe im NIR-Lichtbereich darzustellen das mit Abstand verbreitetste Fluoreszenzagens und Thema vieler Studien verschiedener onkologischer Fachdisziplinen.

So wurde ICG zur Detektion solider Tumoren bei hepatozellulären Karzinomen (Ishizawa et al. 2014) und Lebermetastasen (van der Vorst et al. 2013) beschrieben. Watanabe et al. 2009 demonstrierten die Identifikation (Fluoreszenz) von Kolontumoren im Rahmen von Laparotomien nach ICG-Injektion (Watanabe et al. 2009). Kimura et al. 2007 konnten die Ausdehnung von Magenkarzinomen nach i.v. ICG Gabe bestimmen (Kimura et al. 2007). Okusanya et al. 2014 nutzten ICG zur Identifikation von pulmonalen Raumforderungen im Rahmen offener Thorakotomien, wobei sogar kleinere Tumoren, welche einer Feinschnitt-

Computertomografie entgangen waren identifiziert wurden (Okusanya et al. 2014). Keating et al. zeigten, dass die ICG NIR-Fluoreszenz bei chirurgischer Resektion von Mammakarzinomen eine Hilfe bei der Visualisierung der Tumorgrenzen war (Keating et al. 2016).

Bei Mammakarzinomen wurde ICG insbesondere als Marker für die Sentinel Lymphknoten (SLN) Detektion eingeführt (Ahmed et al. 2014) und auch bei Melanomen konnte die SLN Identifikation mittels ICG in mehreren Studien gezeigt werden (Gilmore et al. 2013, van der Vorst et al. 2013). ICG wurde weiterhin zur SLN Identifikation bei Magenkarzinomen (Miyashiro et al. 2013), bei colorektalen Karzinomen (van der Pas et al. 2013) und bei nicht-kleinzelligen Lungenkarzinomen (Yamashita et al. 2011) verwendet. Außerdem wurde ICG zur SLN Detektion im Bereich des Urogenitaltraktes bei Prostatakarzinomen (Manny et al. 2014), bei Zervix- und Uteruskarzinomen (Jewell et al. 2014), bei Vulvakarzinomen (Crane et al. 2011) und bei Endometriumkarzinomen (Sinno et al. 2014) angewendet.

Im Bereich der rekonstruktiven (Tumor-)Chirurgie wurde die NIR-Fluoreszenzangiografie mit ICG zur Beurteilung der Perfusion von freien Lappen beschrieben (Pestana et al. 2009, Holm et al. 2010) und es wurde gezeigt, dass mit dem intraoperativem Monitoring der Gewebepfusion mit ICG bei Brustrekonstruktionen die Komplikationsrate (Lappennekrosen) gesenkt werden kann (Komorowska-Timek und Gurtner 2010). ICG-Angiografien wurden auch zur Darstellung zuführender Gefäße zur superselektiven intra-arteriellen Chemotherapie bei Mundhöhlenkarzinomen beschrieben (Ohba et al. 2012). Dieselbe Gruppe zeigte dies auch für die ICG-Fluoreszenz bei der intra-arteriellen Chemotherapie für sinunasale Tumoren (Yokoyama et al. 2014). Tabelle 2 gibt einen Überblick über Anwendungsgebiete von ICG in der Onkologie.

Thema	Zusammenfassung
Mammakarzinom	ICG Bildgebung spielt eine Rolle in der Tumoridentifikation, Grenzschnittkontrolle, Sentinel Lymphknoten Biopsie mit geringer falsch negativ Rate, Rekonstruktion sowie Diagnose von Lymphödemen
Hepatozelluläres Karzinom und Lebermetastasen	ICG unterstützt die Standard-Diagnostik bei hepatozellulären Karzinomen und Lebermetastasen mit Vorteilen besonders in der Diagnostik kleiner und oberflächlicher Leberherde
Melanome	NIR Fluoreszenz-guided Sentinel Lymphknoten Resektion ist bei einem Großteil der malignen Hauttumoren möglich, in Studien keine falsch negativen Ergebnisse
Tumoren des Gastrointestinaltrakts	ICG Fluoreszenz Bildgebung kann die SLN Detektion unterstützen, allerdings hohe falsch negative Rate, Perfusionsdiagnostik bei Rekonstruktionen des Gastrointestinaltraktes, Identifikation von soliden Tumoren von Magen und Kolon
Tumoren des Urogenitaltraktes	SLN Detektion bei Prostatakarzinomen, Zervix- und Uteruskarzinomen
Pulmonale Tumoren	NIR Fluoreszenz imaging ist sicher und effektiv zur Diagnostik pulmonaler Tumoren und pulmonaler Metastasen
Rekonstruktive Tumorchirurgie	NIR Fluoreszenz imaging hat das Potential das Outcome chirurgischer Rekonstruktionen zu verbessern
Kopf-Hals-Tumoren	SLN Detektion und Visualisierung von Primärtumoren

Tabelle 2. Übersicht über Anwendungsgebiete von ICG in Studien verschiedener onkologischer Fachdisziplinen (Zelken und Tufaro 2015). Abkürzungen: ICG, Indocyaningrün. NIR, Nahinfrarot. SLN, Sentinel Lymphknoten.

Die Sentinel-Lymphknoten (SLN) Detektion und Biopsie ist bei Kopf-Hals-Tumoren bisher kein universell etablierter Standard. Es ist jedoch eine Tatsache, dass hier bei einem Primärtumor mit klinischem N0-Hals okkulte Mikrometastasen in bis zu 30% der Fälle vorliegen können (Fasunla et al. 2011). In diesem Fall muss eine Entscheidung für oder gegen eine elektive Neck dissection getroffen werden, was zu einer Einführung der SLN Methode bei Kopf-Hals-Tumoren geführt hat. Als Goldstandard wird wie beim Mammakarzinom die Verwendung eines Nano-Kolloid mit radioaktivem ^{99m}Tc und Methylenblau mit Lymphoszintigrafie angesehen. 2010 wurde erstmals gezeigt, dass die Sentinel Lymphknoten Methode mit peritumorale ICG Injektion und anschließender NIR-Kamera Untersuchung des Halses bei Oropharynxkarzinomen möglich ist (Bredell 2010). Subsequente Studien zeigten die Sentinel Lymphknoten Methode bei Oropharynx-Tumor-Patienten mit NIR Fluoreszenz mit Humanalbumin-gebundenem ICG (van der Vorst et al. 2013), die Nutzung von ICG und Methylenblau zur SLN Detektion (Peng et al. 2015) und die Anwendung bimodaler (radioaktiver und ICG-fluoreszierender) Tracer zur kombinierten SLN Detektion (Christensen et al. 2016). Auch die intravenöse Applikation von ICG konnte eine deutlichere Fluoreszenz metastatischer Halslymphknoten darstellen, welche somit von nicht befallenen

Halslymphknoten unterschieden werden konnten (Digonnet et al. 2016). Weiterhin wurde in dieser Studie eine Fluoreszenz von 4 Primärtumoren selbst dokumentiert. Yokoyama et al. beschrieben 2013 erstmals den Einsatz der Fluoreszenz image-guided surgery mit ICG in Kopf-Hals-Tumoren bei 9 Patienten (Yokoyama et al. 2013). Ziel dieser Studie war es den Zeitpunkt des stärksten Tumor-Normalgewebe-Kontrast zu bestimmen und damit das optimale Zeitfenster für die Tumorresektion.

Nach derzeitigem Wissensstand des Autors ist die hier beschriebene Arbeit die erste, welche in vivo die NIR-Fluoreszenzmethode mit ICG bei benignen Tumoren, prämaligen Läsionen und Plattenepithelkarzinomen im Kopf-Hals-Bereich bei einem größeren Patientenkollektiv untersucht. Die Vorteile dieses Verfahrens liegen in einer starken Kontrastgenerierung, der einfachen Handhabbarkeit und intraoperativen Anwendbarkeit ohne Unterbrechung des Chirurgen, niedrigen Kosten im Vergleich zu anderen Methoden und hoher Sicherheit. Die konventionelle Endoskopie mit Weißlicht hat Limitationen bei der Erkennung kleiner Tumoren und der exakten Evaluation der Tumorgrenzen. Die NIR Fluoreszenzendoskopie hat das Potential wertvolle Zusatzinformationen in Echtzeit zu liefern und damit die Diagnostik und den Erfolg chirurgischer Tumorresektionen zu verbessern.

3. Ziele der Arbeit

Ziel der hier beschriebenen Arbeit war die Evaluation der Durchführbarkeit, Möglichkeiten und potentieller Limitationen der NIR Endoskopie mit ICG zur Visualisierung von Kopf-Hals-Tumoren.

Konkreter war das Ziel der Studie zu evaluieren, ob der Einsatz der NIR-Fluoreszenztechnik mit ICG intraoperativ im HNO-Bereich generell möglich ist und ob die Methode in die Standarddiagnostik einer Panendoskopie zu Erstdiagnostik, Rezidivdiagnostik, beziehungsweise bei der Tumoresektion selbst integrierbar ist. Hier stellte sich vor Durchführung die Frage in wie weit der technische, zeitliche Zusatzaufwand und die Lernkurve das Verfahren praktikabel machen?

Die elementare Frage der Studie war, ob das Verfahren in vivo eine visuelle Hilfe bei der Diagnostik von Tumoren im Kopf-Hals-Bereich sein kann. Welche optischen Zusatzinformationen kann die NIR-Methode zur Tumorbetrachtung unter Weißlicht liefern? Dabei wurde bewusst eine reduzierte, subjektive Bewertungsskala festgelegt, welche eine sofortige intraoperative Beurteilung ermöglicht. Auf Basis vorangegangener Studien wurde die Hypothese aufgestellt, dass sich ICG in Tumorgewebe stärker als in Normalgewebe anreichert (Yokoyama et al. 2013). Verschiedene benigne, prämaligne sowie maligne Raumforderungen sollten im Nahinfrarotlichtmodus betrachtet werden und deren Fluoreszenzcharakteristika im Vergleich zum histologischen Ergebnis aufgearbeitet werden. Welche Läsionen und Gewebe reichern ICG an und welche sind negativ? In wie weit korreliert die subjektive ICG-Positivität von Tumoren mit dem histologischen Ergebnis? Welche Charakteristika zeigen benigne Schleimhautbereiche?

Von Interesse war auch die Beurteilung der Tumorausdehnung und Tumorgrenzen. Wie unterscheidet sich die Beurteilung der Tumorausdehnung unter Weißlicht und dem NIR-Modus und wie stellen sich prämaligne Regionen dar? Welches Anreicherungsverhalten zeigt chronisch entzündetes Gewebe und in wie weit ist eine Abgrenzung zu dysplastischem oder malignem Gewebe möglich? Sind bei der NIR-Fluoreszenz Unterschiede zwischen verschiedenartigen anatomischen Unterregionen wie beispielsweise Oropharynx mit den Tonsillen und der Glottis zu beachten?

Zusammenfassend galt die Studie der Frage: In wie weit die NIR-Fluoreszenz mit ICG das Potential hat die aktuelle endoskopische Standarddiagnostik von Kopf-Hals-Tumoren zu unterstützen?

4. Material und Methoden

4.1. Untersuchungszeitraum und Studienrahmen

Die Untersuchung erfolgte als monozentrische prospektive Beobachtungsstudie in der Klinik für Hals-, Nasen- und Ohrenheilkunde des Universitätsklinikum Jena zwischen Oktober 2013 und Oktober 2016. Die Genehmigung zu der Studie lag von der hiesigen Ethikkommission vor Beginn vor. Alle Teilnehmer der Studie gaben ihr schriftliches Einverständnis nach entsprechender Aufklärung.

4.2. Auswahlkriterien und Patientenzahl

In die hier beschriebene Untersuchung wurden insgesamt 83 Patienten mit verschiedensten Tumoren im Kopf-Hals-Bereich eingeschlossen. Bei diesen Patienten wurde unabhängig von der vorliegenden Untersuchung die Indikation zur diagnostischen Panendoskopie oder Mikrolaryngoskopie in Vollnarkose mit Gewebebiopsie gestellt. Zusätzliche Einschlusskriterien waren Alter ≥ 18 Jahre und schriftliches Einverständnis zur Studienteilnahme sowie zur off-label-Verwendung von ICG. Ausschlusskriterien waren höhergradige Nieren-, Leber-, Lungenfunktionsstörungen, Schilddrüsenautonomie, Schwangerschaft sowie Allergie gegenüber ICG und Iod, was zu einem geringen Anteil in ICG enthalten ist.

4.3. NIR-Kamera-System

Verwendet wurde zur NIR-Fluoreszenz-Darstellung das KARL STORZ NIR-System (IMAGE1 S NIR/ICG System; Karl Storz, Tuttlingen) mit einer entsprechenden Lichtquelle (D-LIGHT P; Karl Storz). Dieses System eignet sich zur Standardweißlicht-Darstellung als auch zur Fluoreszenz-Bildgebung. Neben der Full HD-Bildqualität im Weißlichtmodus bietet das System im Fluoreszenz-Modus eine Hintergrundaufleuchtung mit Echtfarbenwiedergabe.

Das System unterscheidet sich nicht von herkömmlich genutzten Weißlicht-nutzenden Endoskopen und konnte daher ohne Lernkurve eingesetzt werden. Ein schnelles Umschalten zwischen den Betriebsmodi Weißlichtbild und Fluoreszenz-Bildgebung ist via Fußschalter einfach möglich. Abb. 7 zeigt das beschriebene NIR-System.

Es wurden in der aktuellen Studie zwei starre NIR-optimierte Endoskope verwendet. Namentlich waren dies ICG HOPKINS (Karl Storz, Tuttlingen) Optik 0° (Durchmesser 5,8 mm, Länge 19 cm) und ICG HOPKINS (Karl Storz, Tuttlingen) Optik 0° (Durchmesser 10 mm, Länge 20 cm).



Abb. 7: Darstellung des genutzten NIR-Systems (Endo Press ® GmbH „Nahinfrarot-Endoskopie mit Indocyaningrün in der HNO-Heilkunde“ 2016).

Das beschriebene IMAGE1 S NIR/ICG System (KARL STORZ, Tuttlingen) beinhaltet auch die Option Befunde mit neuen Visualisierungstechnologien zu betrachten. Bei dem Storz Professional Image Enhancement System (SPIES) handelt es sich um Software, welche durch digitale Modifikationen des endoskopischen Weißlichtbildes die Bildqualität durch Verstärkung von Kontrasten und Farbmodifikationen optimiert. Es stehen laut Herstellerangabe folgende IMAGE1 SPIES Modi zur Verfügung:

– CLARA: Homogene Ausleuchtung

– CHROMA: Kontrastanhebung

– SPECTRA: Farbtonverschiebung und –vertauschung

- 1) SPECTRA A: Farbtonverschiebung und –austausch durch Filterung von Rottönen des sichtbaren Lichts
- 2) SPECTRA B: Spektrale Farbverschiebung mit Intensivierung der blauen und grünen Lichtanteile.

4.4. Untersuchungsablauf

Zuerst erfolgte die Herstellung einer ICG Lösung. 25 mg ICG-Pulver (ICG-Pulsion®, Feldkirchen, Deutschland; Firma mit Hauptprodukt ICG wurde im Februar 2016 an Diagnostic Green GmbH, Aschheim-Dornach verkauft, welche ICG derzeit unter dem Produktnamen VERDYE vertreibt) wurde in 15 ml Aqua destillata gelöst. Von dieser Lösung wurden 5 ml intravenös injiziert. Dies entsprach einer Gesamtdosis von 8,3 mg ICG.

Wir testeten auch die Gabe anderer Konzentrationen von 25 mg/30 ml bis 25 mg/5 ml, jedoch ergab die 25 mg/15 ml Lösung in unserer Untersuchung den besten visuellen Kontrast und somit war dies die Standard ICG Dosis dieser Studie.

Abhängig von der Tumorlokalisation und Indikation wurde entweder eine Panendoskopie oder Mikrolaryngoskopie in Vollnarkose bei den Patienten durchgeführt. Es erfolgte zunächst die konventionelle, bestmögliche Einstellung des Tumors. Befunde in Mundhöhle und Oropharynx wurden in der Regel mit McIvor-Spatel wie zur Tonsillektomie eingestellt. Raumforderungen des Larynx und Hypopharynx wurden mittels starrem Laryngoskopie-Rohr und Fixierung dessen mit Stütze über dem Brustkorb eingestellt.

Nun wurde die oben beschriebene ICG-Lösung i.v. als Bolus appliziert. Anschließend wurde sofort die NIR ICG Endoskopie mit dem vorbeschriebenen NIR-Kamera-System mit Videodokumentation (12 frames/second) gestartet. Hierzu wurden das Oberlicht und sämtliche starke Lichtquellen im Operationssaal ausgeschaltet. Abbildung 8 zeigt das Vorgehen schematisch. Es erfolgte die sorgfältige und akkurate endoskopische Darstellung des betreffenden Tumors und umgebenden Gewebes. Abbildung 9 zeigt das beschriebene intraoperative Setup während der NIR Endoskopie. Die Videoaufzeichnung dauerte generell mindestens 60 Sekunden.

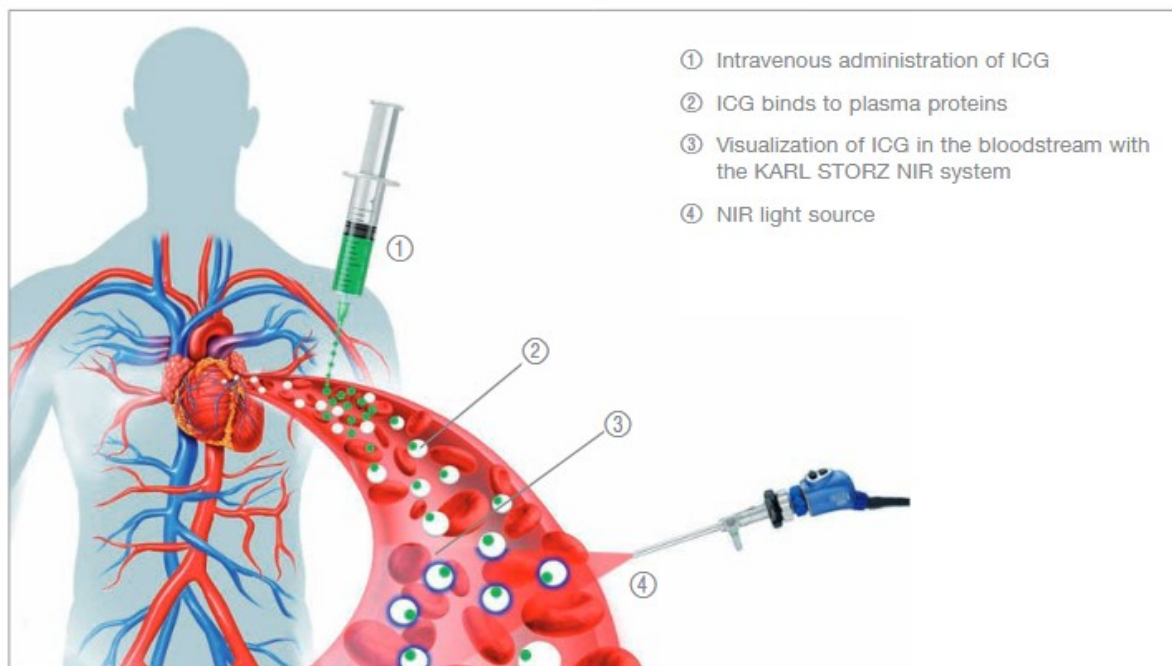


Abb. 8: Prinzip der NIR-Endoskopie mit ICG. NIR, Nahinfrarot. ICG, Indocyaningrün. Aus: http://endovet.co.kr/comm/public/goods/1707/1500601077_3.pdf?PHPSESSID=37f49377c69979522f9ea1bf20359f59.

Die initiale Phase der ICG-Anreicherung des Befundes wurde vollständig im NIR ICG Modus aufgezeichnet. Nachdem sich ein gleichbleibendes Bild mit relativ stabiler ICG-Verteilung einstellte, wurde mehrfach zwischen Weißlicht und NIR ICG Modus umgeschaltet. Generell wurden die Befunde endoskopisch sofern möglich so eingestellt (im Weißlicht und NIR/ICG-Bild), dass eine bestmögliche Übersicht über den gesamten Befund einschließlich einem Saum normalen Gewebes sichtbar waren. Danach wurden einige Tumoren näher mit Zoom betrachtet.

Anschließend wurden nach der NIR/ICG-Betrachtung einige der Tumoren mit den oben beschriebenen Visualisierungstechniken CLARA, CHROMA und SPECTRA betrachtet.

Nachdem die Videoaufzeichnung beendet wurde, erfolgte die Biopsie der Raumforderung, welche zur histopathologischen Untersuchung eingesendet wurde und ggf. Komplettierung der Panendoskopie. ICG-verursachte Komplikation oder Nebenwirkungen konnten in der aktuellen Untersuchung nicht beobachtet werden.

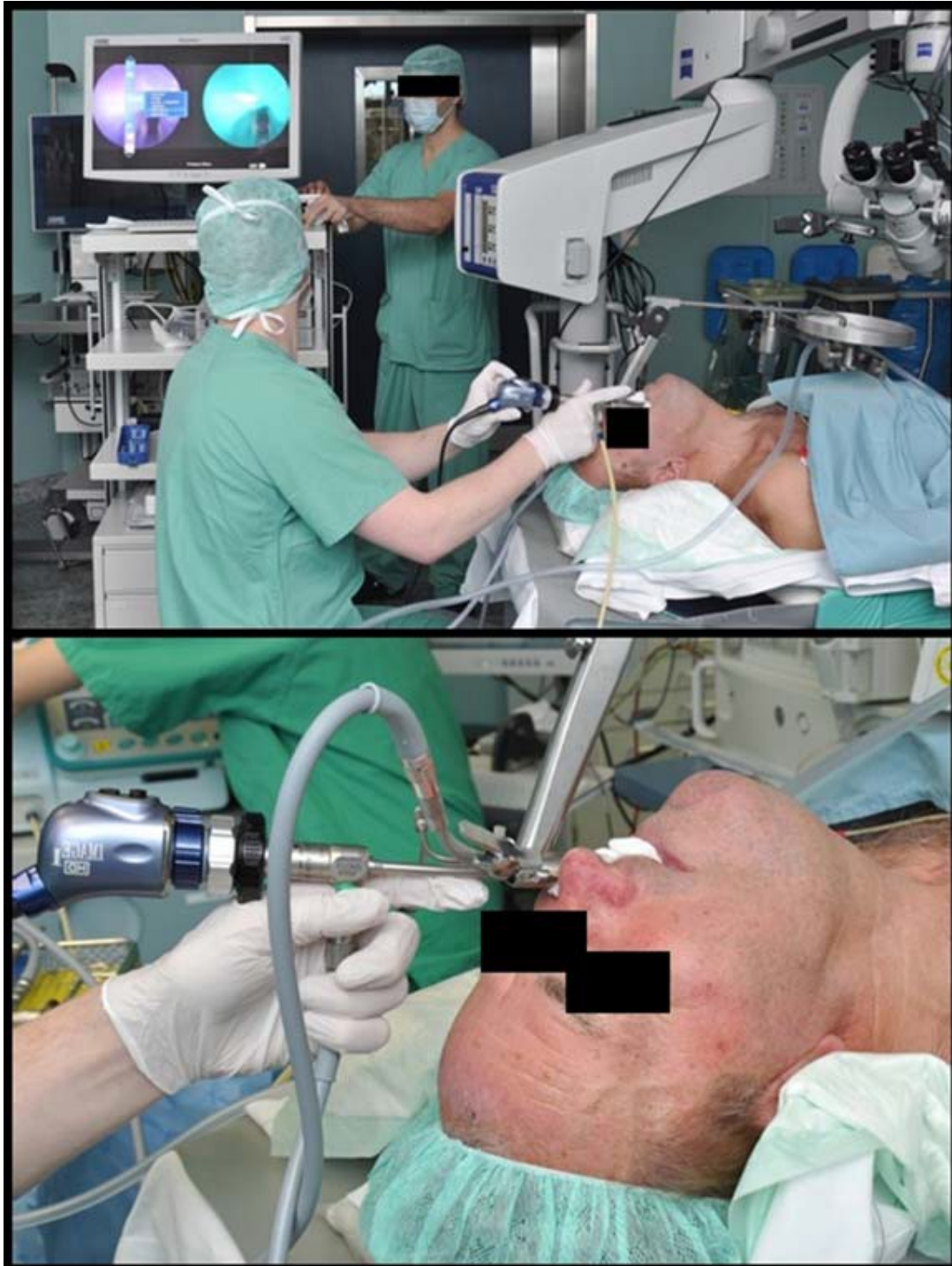


Abb. 9: Intraoperatives Setting mit starrer Laryngoskopie im Rahmen einer standardisierten Panendoskopie. Durchführung der Nahinfrarot (NIR) Endoskopie mit Indocyaningrün (ICG) direkt nach i.v. Gabe von ICG. Der geteilte Bildschirm erlaubt die zeitgleiche Darstellung in verschiedenen Modi (Schmidt et al. 2017).

4.5. Datenauswertung ex vivo

Die in der Untersuchung gewonnenen Videodateien mit einer Bildfrequenz von 12/Sekunde wurden separat off-line ausgewertet. Jedes Video hatte eine Minstdauer von 60 Sekunden. Die Videos wurden wiederholt betrachtet und des Weiteren auch anhand der einzelnen Frames (12/Sekunde) bewertet.

Zur Auswertung wurden vier Kriterien festgelegt.

Das 1. Kriterium war ICG-Positivität der Raumforderung (ja/nein). Positiv wurde als ein schnelles Anfluten von ICG nach Injektion und eine deutlich stärkere, kontrastgebende Fluoreszenz der Raumforderung im Vergleich zum umliegenden Gewebe definiert. Oberflächliche, submukosal gelegene Gefäße waren in jedem Fall ICG-positiv. Daher war es möglich, dass eine Raumforderung selbst ICG-negativ war aber ICG-positive Gefäße zeigte.

Das 2. Kriterium war Pooling von ICG innerhalb der Raumforderung (ja/nein) über die Aufzeichnungsdauer des Videos. Einige Raumforderungen zeigten eine konstante ICG-Fluoreszenz des Tumors und eine gewisse ICG-Verteilung (Retention) innerhalb der Raumforderung.

Schließlich wurde als 3. Kriterium, im Falle eines ICG-positiven Tumors, die Tumorgöße unter NIR und Weißlicht verglichen (gleich/größer/kleiner).

Letztlich wurden 4. einige der Tumoren näher betrachtet. Diese Nahbetrachtung der Tumoroberfläche mit der NIR/ICG-Endoskopie untersuchte, welche Besonderheiten der Tumor im Vergleich zum Normalgewebe aufwies. Es wurde evaluiert, ob pathologische tumorale Gefäßstrukturen, welche Arens et al. beschrieben haben, dargestellt werden konnten (Arens et al. 2015). Dabei wurden einige Tumoren mittels der beschriebenen SPIES Visualisierungstechnologien CLARA, CHROMA, SPECTRA betrachtet. Es wurde untersucht, ob dies zusätzliche Informationen zu den 3 ICG-Basisparametern liefern konnte. Hierbei wurde speziell die oberflächliche Gefäßarchitektur der Befunde beurteilt.

4.6. Statistik

Die statistische Auswertung erfolgte mit dem Programm IBM SPSS version 24.0 für Windows (Chicago, Illinois, USA). Sofern nicht anders angegeben wurden die Daten als Durchschnitt mit Standardabweichung angegeben. Um die diagnostische Sicherheit der NIR/ICG-Positivität (Ja, Nein) einen malignen Tumor (Ja, Nein) vorherzusagen zu überprüfen, wurden eine Kreuztabellenanalyse sowie die Berechnung von Sensitivität, Spezifität, Test-Genauigkeit und positivem sowie negativem Vorhersagewert durchgeführt. Unterschiede bei der Beurteilung von Parametern zwischen zwei Subgruppen von Patienten wurden mit dem Chi-Quadrat-Vierfeldertest evaluiert. Das Signifikanzniveau wurde auf $p < 0.05$ festgelegt.

5. Ergebnisse

5.1. Patientencharakteristika

Die Charakteristika der untersuchten Patienten sind in Tabelle 3 zusammenfassend dargestellt. Es wurden insgesamt überwiegend Männer (72.3%) eingeschlossen. Das mediane Alter lag bei 59 Jahren. Die Mehrheit der Tumoren war im Larynx (55%) lokalisiert, gefolgt von Oropharynx (28%), Mundhöhle (15%) und Hypopharynx (2%). Es handelte sich in den meisten Fällen um primäre Läsionen beziehungsweise Ersttumoren (81%). Die häufigste histologische Entität war das Plattenepithelkarzinom (34%), gefolgt von chronischer Entzündung (17%), normaler Schleimhaut (13%) und Reinke Ödemen (7%). Insgesamt waren 41% der Läsionen maligne, wobei hier SIN III Läsionen (5%) als Korrelat eines Carcinoma in situ eingeschlossen wurden. Benigne Läsionen kamen in 47% der Fälle vor und verteilten sich auf verschiedenste Entitäten wie chronische Entzündung, normale Schleimhaut, Zysten, Polypen oder Papillome. Prämaligne Läsionen kamen in 12% der Fälle vor. Nach der überarbeiteten WHO Klassifikation 2017 waren je 8% prä-maligne Läsionen high grade Dysplasien und 8% low grade Dysplasien.

Komplikationen wurden während der NIR Endoskopien nicht beobachtet.

Es ergab sich bis auf die Zeit der Videoaufzeichnung der NIR Endoskopie selbst keine relevante Verzögerung des routinemäßigen Operationsablaufes. Das bedeutet, dass sich die reine OP-Zeit im Durchschnitt um 3 Minuten (mit einer Streubreite von 1 bis 12 Minuten) verlängerte, was der Zeit der Videoaufzeichnung entsprach. Das Anfertigen der intravenösen ICG-Lösung und Setup des Kamerasystems konnte in der Regel parallel zur Narkoseeinleitung durchgeführt werden und verlängerte daher die reine OP-Zeit nicht.

Patientencharakteristika (<i>n</i> =83)	Absolute Anzahl, n.	Relativ, %
Geschlecht		
weiblich	23	27.7
männlich	60	72.3
Lokalisation		
Larynx	46	55.4
Oropharynx	23	27.7
Mundhöhle	12	14.5
Hypopharynx	2	2.4
Erstdiagnose oder Rekurrenz		
Erstdiagnose	67	80.7
Rekurrenz	16	19.3
Histologie		
Plattenepithelkarzinom	28	33.7
Chronische Entzündung	14	16.9
Normale Schleimhaut	11	13.3
Reinke Ödem	6	7.2
SIN III (hochgradige Dysplasie)	4	4.8
Hyperkeratose	4	4.8
SIN II (mittelgradige Dysplasie)	3	3.6
Leukoplakie	3	3.6
Zyste	3	3.6
Polyp	3	3.6
Lymphom	2	2.4
Papillom	1	1.2
Papillomatose	1	1.2
Maligner Tumor		
Nein	49	59.0
Ja	34	41.0
Wenn maligne (<i>n</i> =34), Differenzierung		
G1	1	2.9
G2	15	44.1
G3	11	32.4
Keine Angabe	7	20.6
Wenn maligne (<i>n</i> =34), T-Stadium		
T1	3	8.8
T2	10	29.4
T3	10	29.4
T4	4	11.8
Keine Angabe	7	20.6
	Durchschnitt ± SD	Median, Streubreite
Alter in Lebensjahren	59.47 ± 12.78	59, 22-88

Tabelle 3. Patientencharakteristika der Studie. SIN, squamous intraepithelial neoplasia.

5.2. Nahinfrarot-/ICG Ergebnisse

5.2.1. Normalbefunde und ICG-positive Gefäße

Generell zeigten submuköse Gefäße eine Anreicherung von ICG. Durch den im Nahinfrarotbereich gegebenen ICG-Kontrast konnten Gefäße somit in Ihrem Verlauf deutlich dargestellt werden und wurden daher als ICG-positiv eingestuft. ICG-positive Gefäße fanden sich in normaler Schleimhaut und benignen Schleimhautläsionen des oberen Aerodigestivtraktes. Besonders in Oropharynx und Larynx waren submuköse Gefäße gut visualisierbar und es fiel diesbezüglich kein Unterschied zwischen den Unterregionen auf. Abbildung 10 zeigt die ICG-Positivität von Gefäßen.

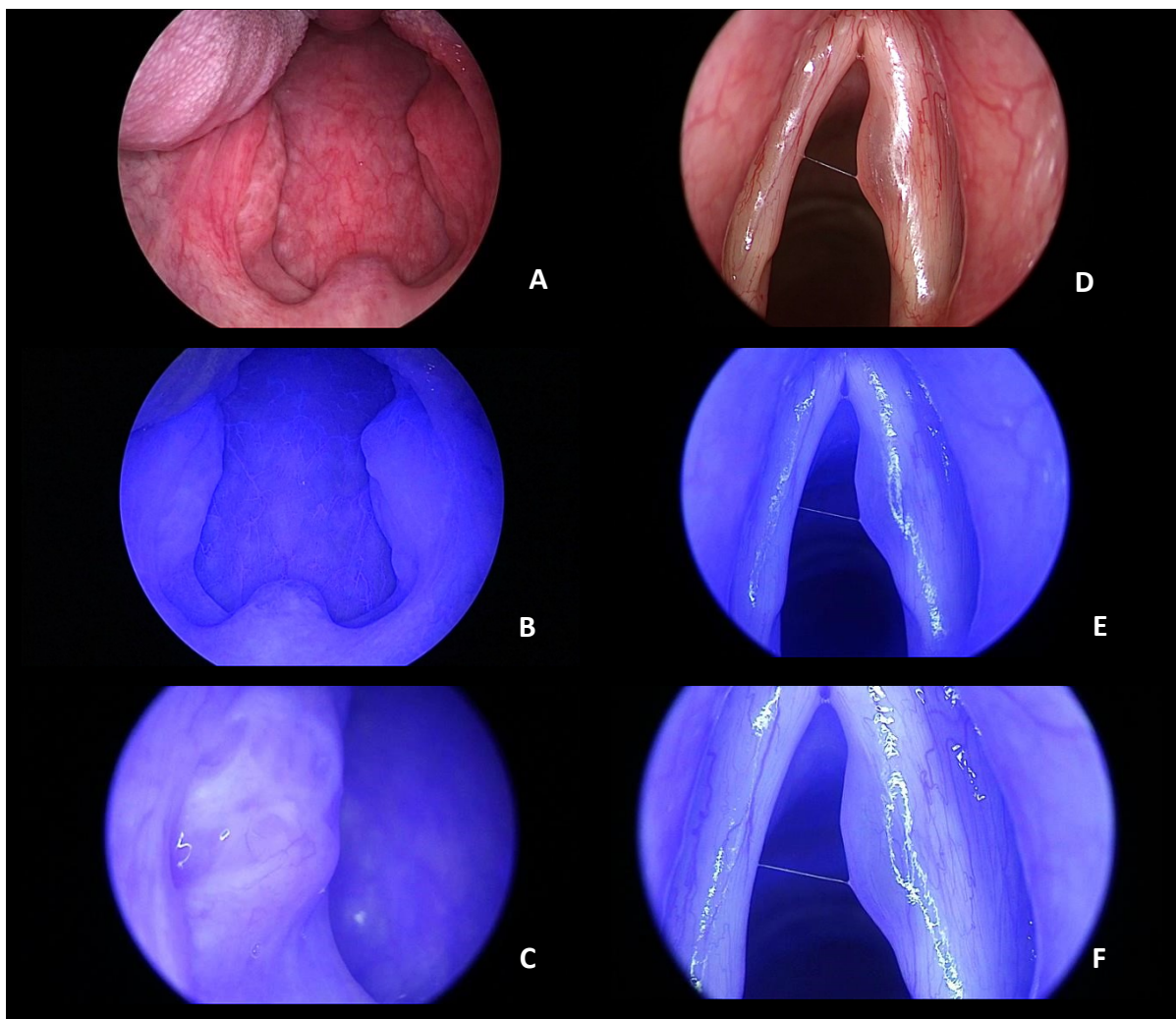


Abb. 10: Normalbefund des Oropharynx (links) und Stimmlippenpolyp (rechts). Weißlichtendoskopische Ansicht (A, D) und NIR/ICG-Endoskopie Übersicht (B, E) sowie Nahbetrachtung (C, F). Es zeigt sich eine deutliche Fluoreszenz der submukösen Gefäße der Rachenhinterwand, Tonsille rechts und des Stimmlippenepithels, welche ICG anreichern (ICG-positiv). NIR, Nahinfrarot. ICG, Indocyaningrün.

Benigne Raumforderungen zeigten in der Regel keine Anreicherung von ICG, also visuell keine kräftigere Fluoreszenz im Vergleich zum Umgebungsgewebe. Benigne Raumforderungen wurden so überwiegend ICG-negativ bewertet (Tabelle 4). Innerhalb ICG-negativer Läsionen waren unter Umständen ICG-positive normale Gefäße sichtbar (Tabelle 4). Abbildung 11 gibt eine Übersicht von gutartigen Befunden im Weißlicht- und NIR-Modus mit ICG.

Histologie	Anzahl ICG-positiver Läsionen	Anzahl ICG-negativer Läsionen		Gesamt
		Gefäße ICG-negativ	Gefäße ICG-positiv	
Plattenepithelkarzinom	26	1	1	28
Chronische Entzündung	4	5	5	14
Normale Schleimhaut	1	4	6	11
Reinke Ödem	0	1	5	6
SIN III (hochgradige Dysplasie)	4	0	0	4
Hyperkeratose	0	4	0	4
SIN II (mittelgradige Dysplasie)	1	1	1	3
Leukoplakie	0	3	0	3
Zyste	0	0	3	3
Polyp	0	0	3	3
Lymphom	2	0	0	2
Papillom	1	0	0	1
Papillomatose	0	0	1	1
Gesamt	39	19	25	83

Tabelle 4. Relation Histologie zu Indocyaningrün Positivität und Indocyaningrün-positiven Gefäßen. ICG, Indocyaningrün. SIN, squamous intraepithelial neoplasia.

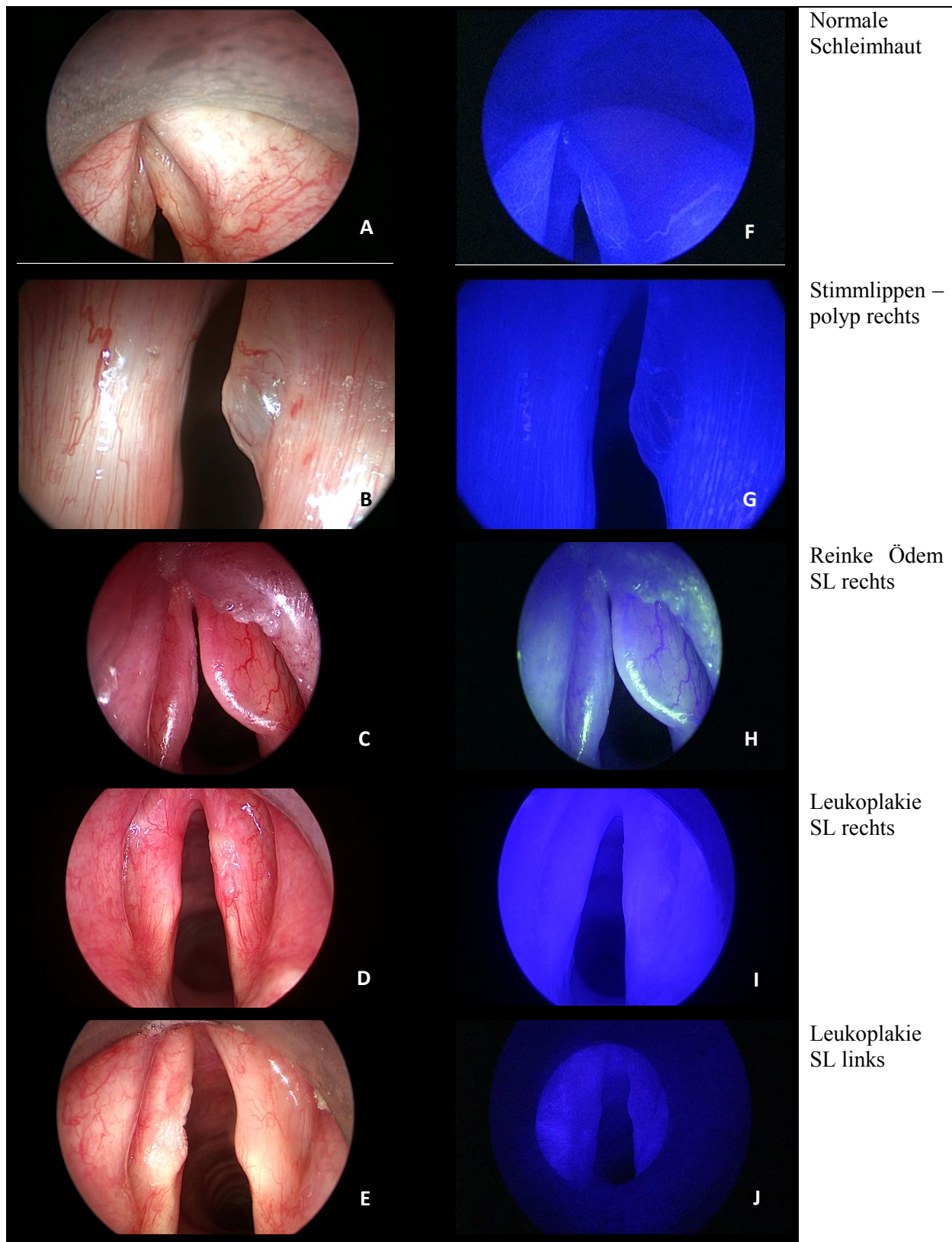


Abb. 11: Nicht-maligne Raumforderungen des Larynx mit Weißlichtendoskopie (*links*) und NIR-Endoskopie mit ICG (*rechts*) betrachtet. Normale Schleimhaut mit deutlich sichtbaren ICG-positiven Gefäßen (A,F). Polyp (B,G) und Reinke Ödem (C,H) als benigne Raumforderungen sind selbst ICG-negativ, enthalten aber ICG-positive Gefäße. Die Leukoplakie der Stimmklappe (D,E,I,J) zeigt sich ebenfalls ICG-negativ aber ohne ICG-positive Gefäße. SL, Stimmklappe. ICG, Indocyaningrün. NIR, Nahinfrarot. Abbildungen A, D, F, I aus: (Schmidt et al. 2017).

5.2.2. ICG-Positivität von Tumoren

Raumforderungen wurden als ICG-positiv bewertet, wenn diese innerhalb von Sekunden (1 bis zu 5 Sekunden) eine starke Aufnahme beziehungsweise Anreicherung von ICG nach intravenöser Gabe zeigten. Visuell zeigte die Raumforderung dabei im ICG-positiven Fall eine offensichtlich kräftigere, kontrastgebende Fluoreszenz im Vergleich zum umliegenden Gewebe im NIR-Modus. Die graduelle Aufnahme von ICG, also graduelle Zunahme der Fluoreszenz, erstreckte sich über einen Zeitraum von etwa 10 Sekunden. Das Carcinoma in situ (SIN III) und maligne Tumoren (93% Plattenepithelkarzinome) wurden so in 94% der Fälle ICG-positiv bewertet (Tabelle 4). ICG-positive normale Blutgefäße wie bei Normalbefunden oder benignen Raumforderungen beschrieben waren innerhalb ICG-positiver Tumoren nicht mehr abgrenzbar. Auf den folgenden Seiten zeigt Abbildung 12 den Zeitverlauf der graduellen ICG-Aufnahme und Retention eines Plattenepithelkarzinoms und Abbildung 13 stellt eine vergleichende visuelle Übersicht von malignen Befunden im Weißlicht- und NIR/ICG-Bild dar.

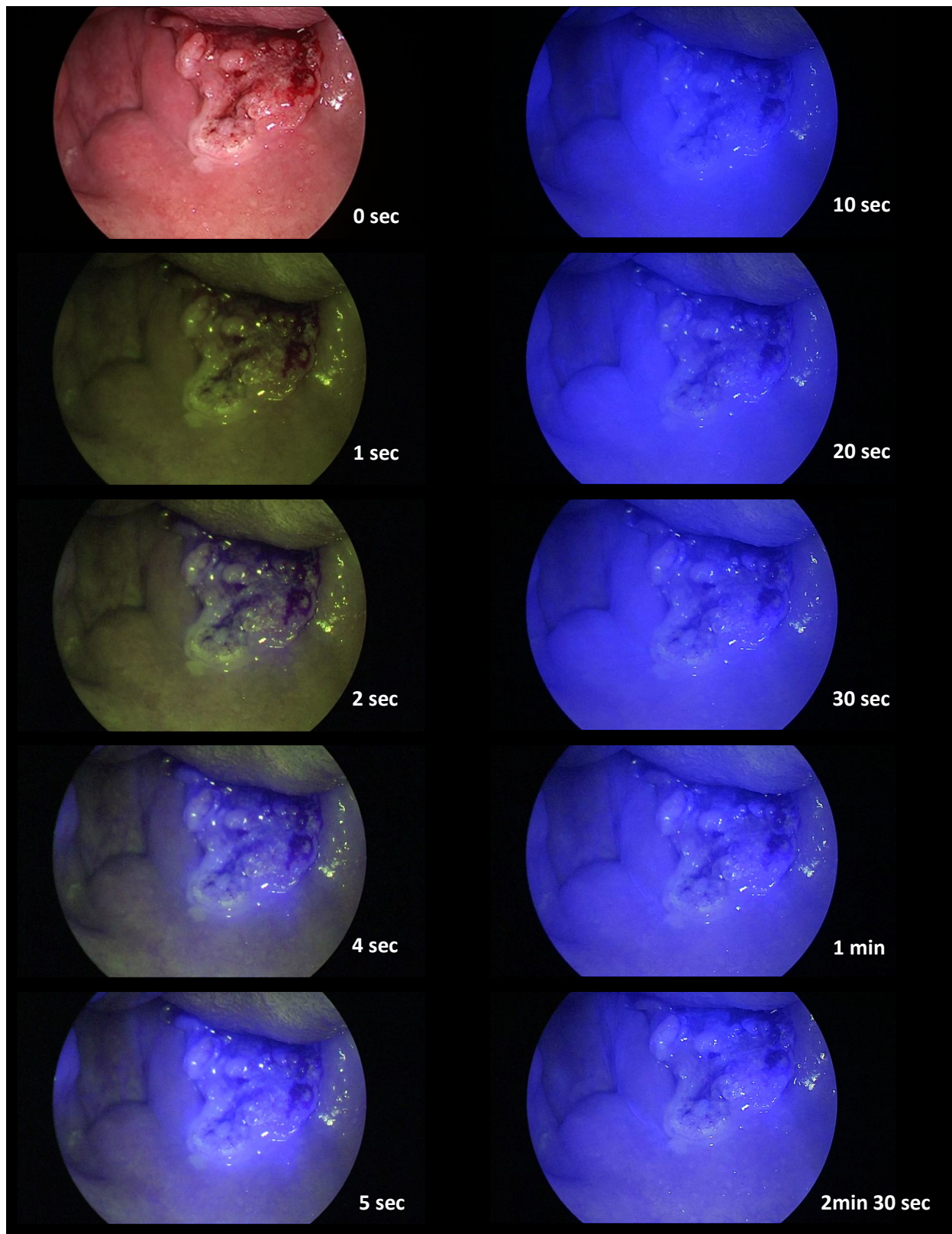


Abb. 12: Oropharynxkarzinom links bei 0 sec im Weißlichtbild und ab 1 sec im NIR-Modus mit ICG. Es zeigt sich eine Fluoreszenz des Tumors innerhalb von 2 Sekunden (ICG-positiv). Die Fluoreszenz nimmt bis Sekunde 10 graduell zu; über die Länge der Betrachtung bis 2 min 30 sec zeigt der Tumor dann ein persistierendes ICG-positives Fluoreszenzsignal (ICG-Retention); innerhalb des Tumorbereiches sind keine normalen Blutgefäße wie beispielsweise an der Rachenhinterwand bei sec 10 abgrenzbar. NIR, Nahinfrarot. ICG, Indocyaningrün.

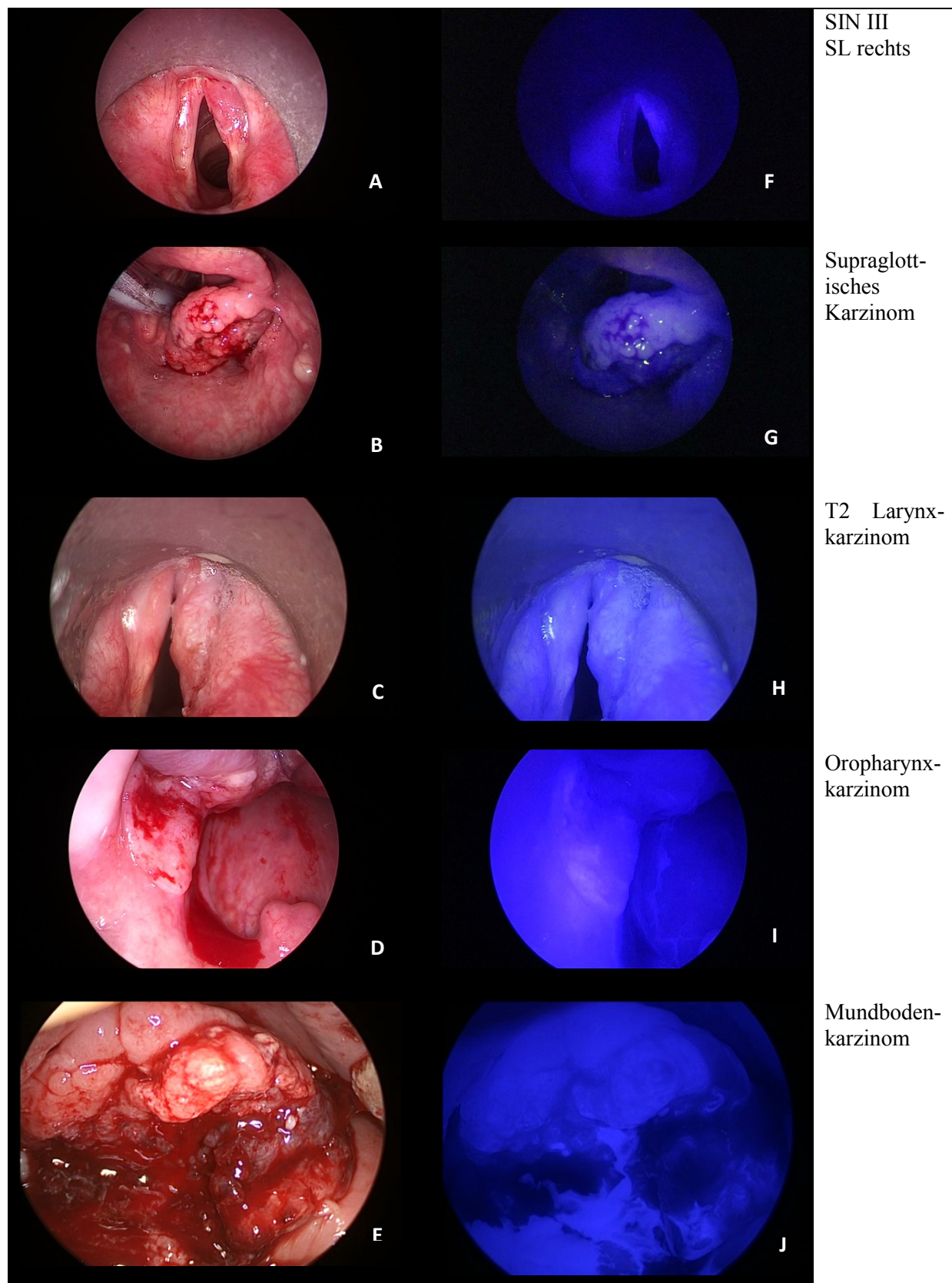


Abb. 13: Maligne Raumforderungen von Larynx (A,B,C), Oropharynx (D) und Mundhöhle (E) mit Weißlichtbetrachtung (*links*) und NIR-Endoskopie mit ICG (*rechts*). Die Tumoren sowie auch die SIN III zeigen eine deutliche Fluoreszenz, also ICG-Anreicherung (ICG-positiv) F-J. Normale Blutgefäße sind innerhalb der Tumoren nicht mehr abgrenzbar. SL, Stimmlippe. ICG, Indocyaningrün. SIN, squamous intraepithelial neoplasia. Abbildungen A, D, F, I aus: (Schmidt et al. 2017).

Um die diagnostische Sicherheit der NIR/ICG-Positivität (Ja, Nein) einen malignen Tumor (Ja, Nein) vorherzusagen zu überprüfen wurden eine Kreuztabellenanalyse (Tabelle 5) sowie die Berechnung von Sensitivität, Spezifität und positivem sowie negativem Vorhersagewert durchgeführt. Unterschiede bei der Beurteilung von Parametern zwischen den zwei Subgruppen von Patienten wurden mit dem Chi-Quadrat-Vierfeldertest evaluiert. Das Signifikanzniveau wurde auf $p < 0.05$ festgelegt. Der Pearson Chi-Quadrat-Vierfeldertest ergab einen Wert von $(1, N = 83) = 51,36$, was größer als der kritische Wert von 3,84 ist. Somit konnte gezeigt werden, dass ICG-Positivität statistisch signifikant mit einem malignen Tumor assoziiert ist ($p < 0.001$). Phi wurde geschätzt auf 0,79.

Die Berechnung der Sensitivität ergab 94,1% und Spezifität 85,7%. Die Test-Genauigkeit war 89,2%. Der Positiv prädiktive Wert war 82,1%; der Negativ prädiktive Wert 95,5%.

	ICG-negative Befunde	ICG-positive Befunde	<i>p</i> Wert
Benigne Raumforderung	42	7	< 0.001
Maligner Tumor*	2	32	
Gesamt	44	39	

Tabelle 5: Diagnostische Sicherheit der ICG-Positivität maligne Tumoren ($n=83$) vorherzusagen. ICG, Indocyaningrün. SIN, squamous intraepithelial neoplasia. *Einschließlich Plattenepithelkarzinome (26), Lymphome (2) und hochgradige Dysplasie (=SIN III; 4).

5.2.3. ICG-Retention von Tumoren

Tumoren, welche als ICG-positiv eingestuft wurden, zeigten entweder eine nur initiale oder persistierende ICG-Fluoreszenz (Retention) über die Zeit der Videoaufzeichnung (Durchschnittlich 3 Minuten, Streubreite 1 - 12 Minuten). Maligne Befunde (Plattenepithelkarzinom, SIN III) zeigten in jedem Fall eine ICG-Retention (Tabelle 6). Die Retention von ICG, sprich das persistierende Fluoreszenzsignal der Tumoren war entweder homogen oder inhomogen. Abbildung 14 gibt einen Überblick über ICG-Retention bei Tumoren.

Histologie	ICG Retention Nein	ICG Retention Ja	Gesamt
Plattenepithelkarzinom	0	26	26
Chronische Entzündung	1	3	4
SIN III (hochgradige Dysplasie)	0	4	4
Lymphom	0	2	2
SIN II (mittelgradige Dysplasie)	0	1	1
Normale Schleimhaut	1	0	1
Papillom	1	0	1
Gesamt	3	36	39

Tabelle 6. Relation von histopathologischem Ergebnis zur ICG-Retention bei Indocyaningrün-positiven Tumoren. ICG, Indocyaningrün. SIN, squamous intraepithelial neoplasia.

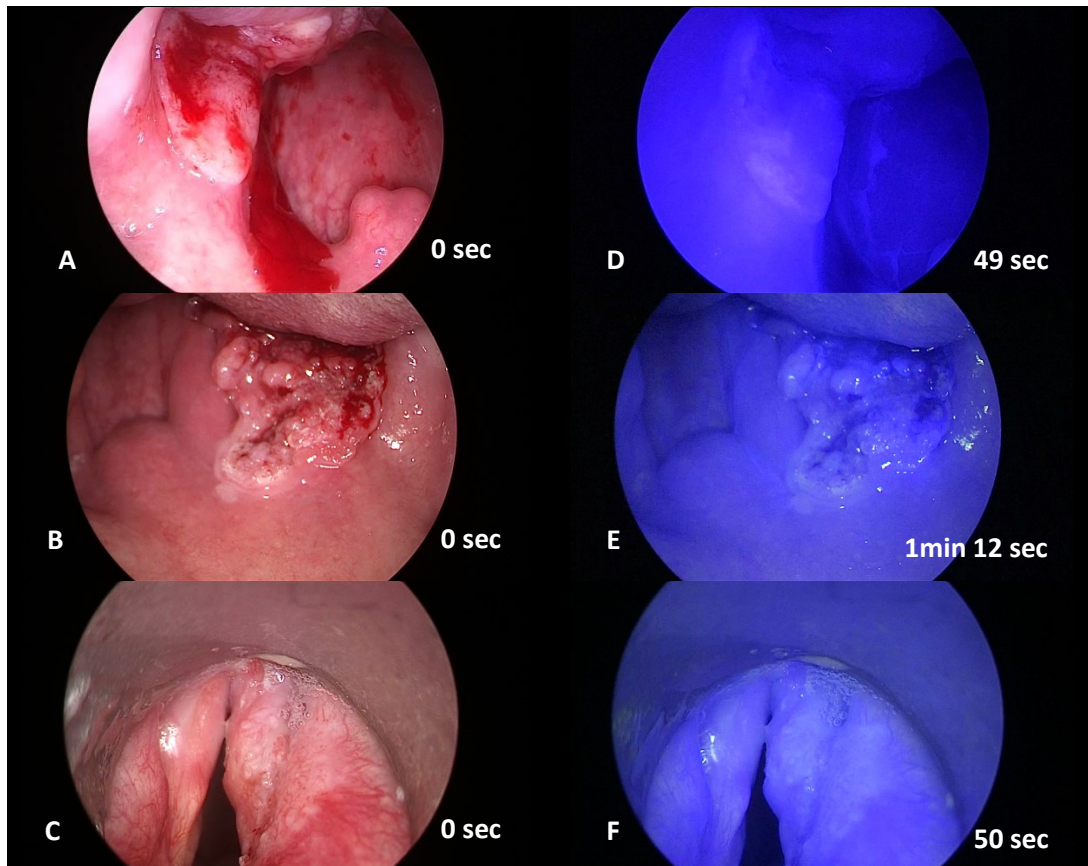


Abb 14: Maligne Tumoren im Weißlichtbild (*links*) und NIR-Modus mit ICG (*rechts*), welche ein ICG-positives Fluoreszenzsignal und ICG-Retention zeigen. Inhomogene ICG-Retention (D,E) und homogene Retention (F). NIR, Nahinfrarot. ICG, Indocyaningrün.

5.2.4. Tumorgröße mit Weißlicht und NIR/ICG-Endoskopie

Des Weiteren wurden ICG-positive Tumoren in ihrer Größenausdehnung beurteilt. Nach der initialen ICG-Aufnahme (nach mindestens initialen 10 Sekunden) wurde die Tumorgröße unter Weißlichtendoskopie mit dem NIR/ICG-Bild verglichen. Hierzu wurden die Tumorränder anhand der offline Videodaten vom Weißlichttumorrand ausgehend betrachtet. Wenn die ICG-Fluoreszenz den weißlichtendoskopischen Tumor an mindestens einer Stelle überragte, wurde dies als größer bewertet. ICG-positive maligne Tumoren, wurden so im NIR/ICG-Modus gleich groß oder größer beurteilt (Tabelle 7). Maligne Tumoren erschienen im NIR/ICG-Modus in 77% der Fälle ausgedehnter als der entsprechende Tumor bei Weißlichtbetrachtung. Außerdem waren in dem Bereich, welcher im NIR-Modus den Weißlichttumor überragte wie im Tumor selbst keine normalen Gefäße abgrenzbar. ICG-positive benigne Raumforderungen waren im NIR-Modus in der Regel gleich groß oder kleiner (Tabelle 6). Abbildung 15 bis 19 gibt einen visuellen Überblick über den Tumorgrößenvergleich unter Weißlichtbetrachtung versus NIR-Modus mit ICG.

Histologie	gleich	größer	kleiner	Gesamt
Plattenepithelkarzinom	5	20	1	26
SIN III (hochgradige Dysplasie)	0	4	0	4
Chronische Entzündung	4	0	0	4
Lymphom	0	1	1	2
Normale Schleimhaut	0	0	1	1
SIN II (mittelgradige Dysplasie)	0	1	0	1
Papillom	1	0	0	1
Gesamt	10	26	3	39

Tabelle 7. Relation von histopathologischem Ergebnis zur Größenbeurteilung ICG-positiver Tumoren im NIR-Modus im Vergleich zur Weißlichtdarstellung. SIN, squamous intraepithelial neoplasia. ICG, Indocyaningrün. NIR, Nahinfrarot.

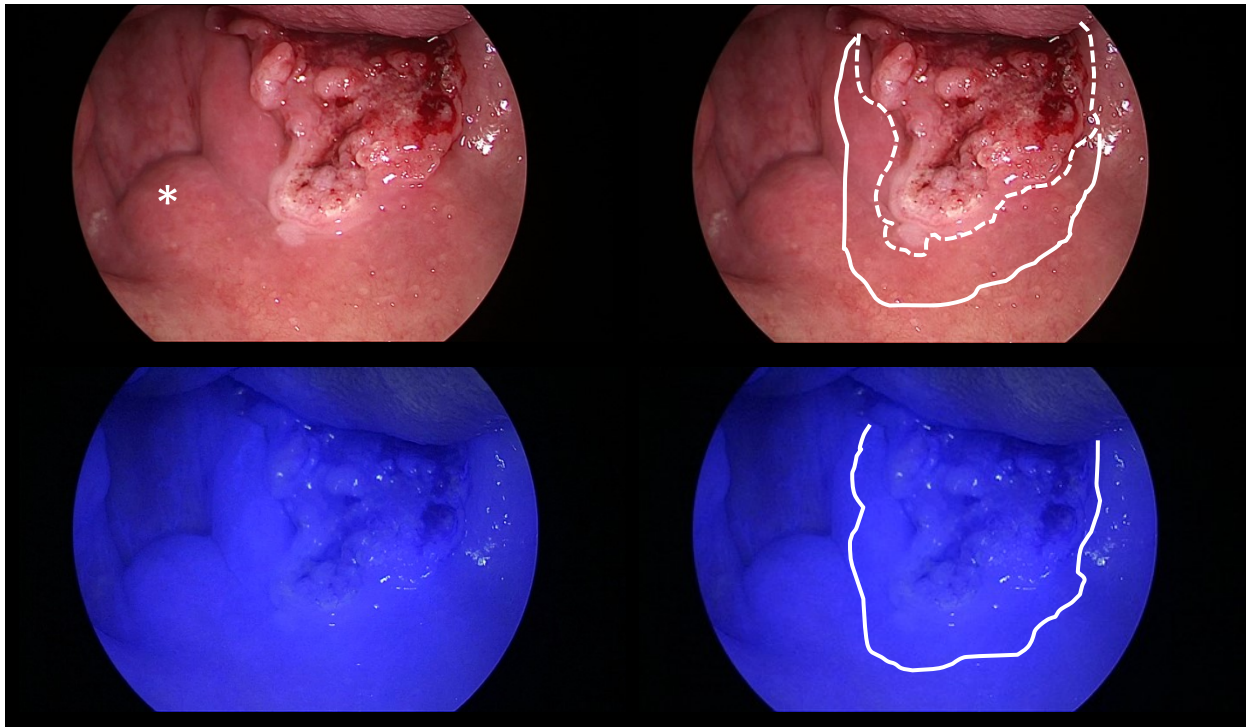


Abb. 15: Im Weißlichtbild hat der Tumor einen kleinen Randsaum (gestrichelte Linie). Tatsächlich ist die Fluoreszenz im NIR-Modus deutlich ausgedehnter; an der Rachenhinterwand deutlich sichtbare Gefäßzeichnung, welche im ICG-positiven Bereich des Tumors fehlt. * = Uvula. Abbildung aus: Endo Press ® GmbH „Nahinfrarot-Endoskopie mit Indocyaningrün in der HNO-Heilkunde“ 2016.

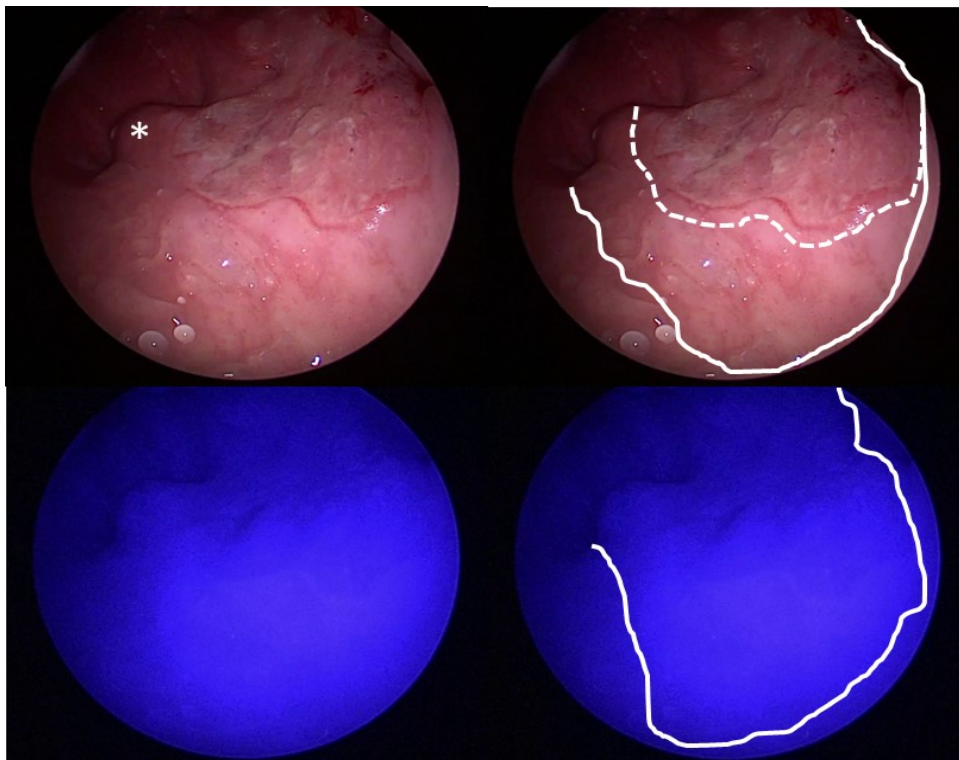


Abb. 16: Betrachtet man nur das Weißlichtbild (oben), so kann die Tumorgrenze täuschen (gestrichelte Linie); tatsächlich verläuft im Einklang mit dem Eindruck der recht homogenen Fluoreszenz im NIR/ICG-Bild (unten) die Tumorgrenze weiter medial und kranial (durchgezogene Linie) im Weichgaumen rechts; an der Rachenhinterwand, jedoch nicht im ICG-positiven Bereich sind normale Gefäße erkennbar. * = Uvula. Abbildung aus: Endo Press ® GmbH „Nahinfrarot-Endoskopie mit Indocyaningrün in der HNO-Heilkunde“ 2016.

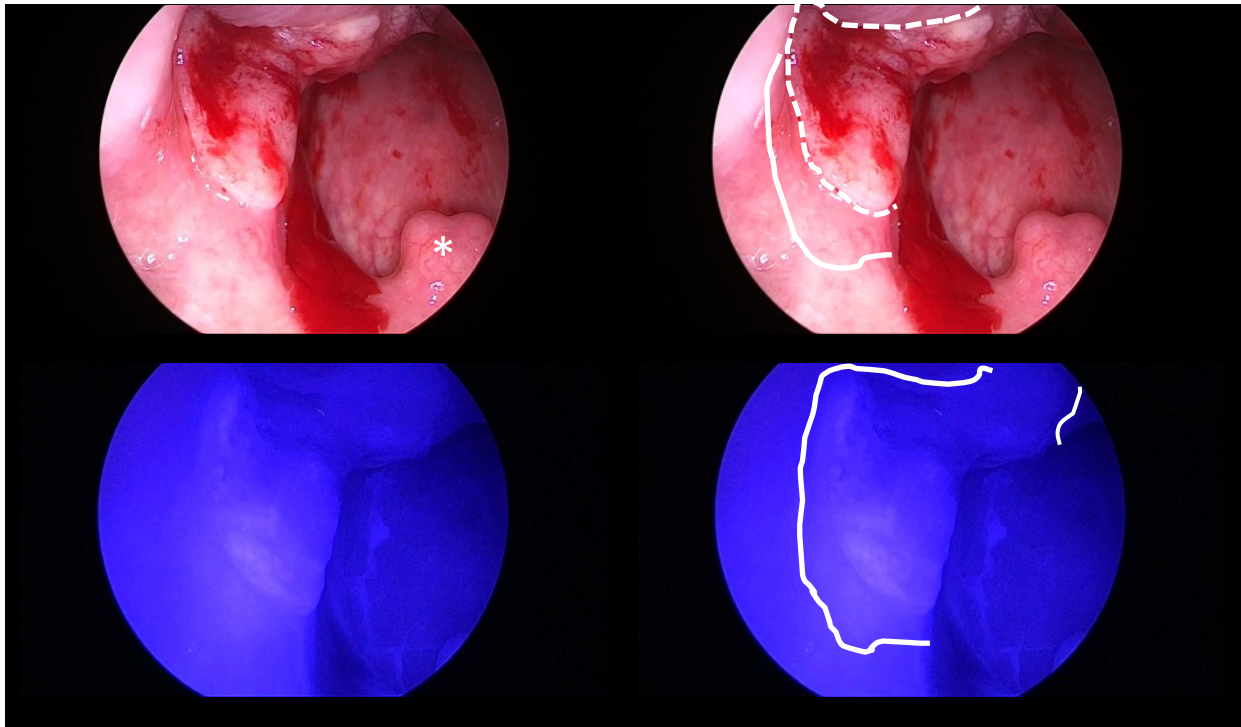


Abb. 17: Im Weißlichtbild (oben) erscheint der Tumorrand eine relative scharfe Begrenzung (gestrichelte Linie) zu haben; im NIR/ICG-Bild (unten) zeigt sich eine deutlich größere Ausdehnung. Normale Gefäße sind an der Rachenhinterwand, aber nicht im tumorassoziierten ICG-positiven Bereich sichtbar, welcher die Weißlichttumorgrenze überragt. * = Uvula.

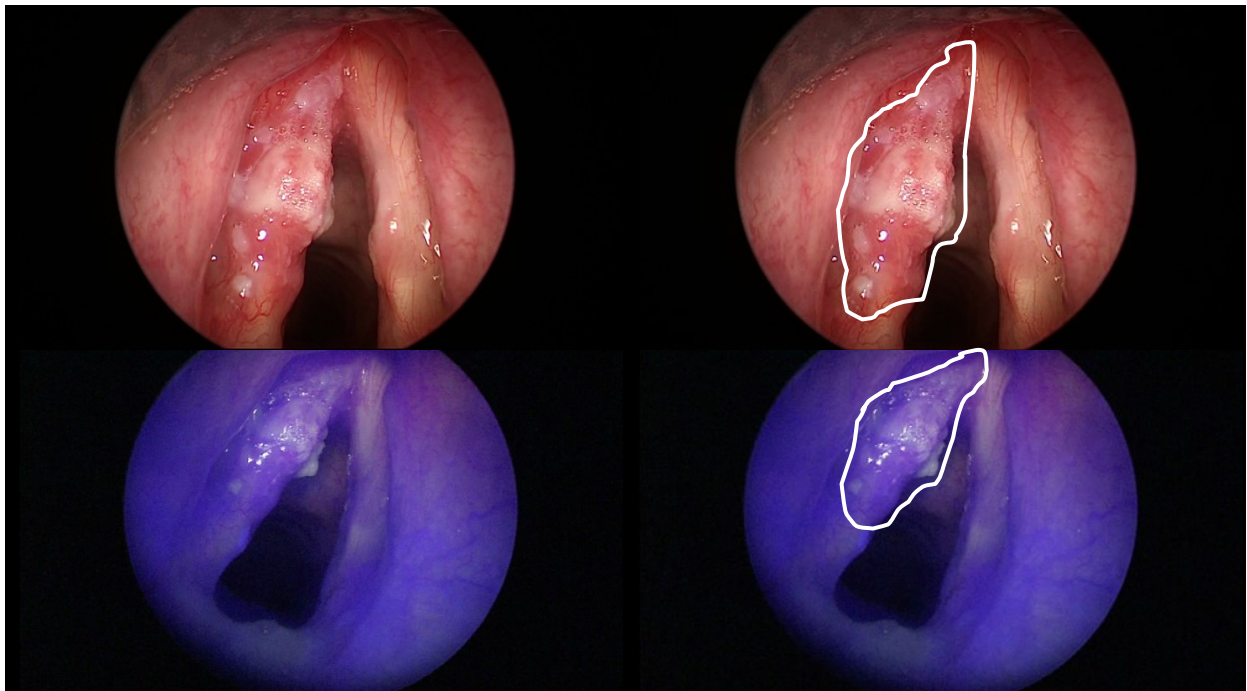


Abb. 18: Glottisches Karzinom links. Die leukoplakischen und hyperkeratotischen Bereiche zeigen typischerweise keine ICG Fluoreszenz. Normale feine submuköse Gefäßverläufe wie auf der Stimmlippe rechts und posterior links fehlen im Tumor völlig. Während im Weißlichtbild (oben) der Tumor insbesondere anterior und anteriolateral unscharf begrenzt erscheint, demarkiert sich der Tumor im NIR/ICG-Bild (unten) sehr gut von der gesunden Umgebung. Weißlicht- und NIR/ICG-Bild zeigen eine identische Tumorgöße. Abbildung aus: Endo Press ® GmbH „Nahinfrarot-Endoskopie mit Indocyaningrün in der HNO-Heilkunde“ 2016.

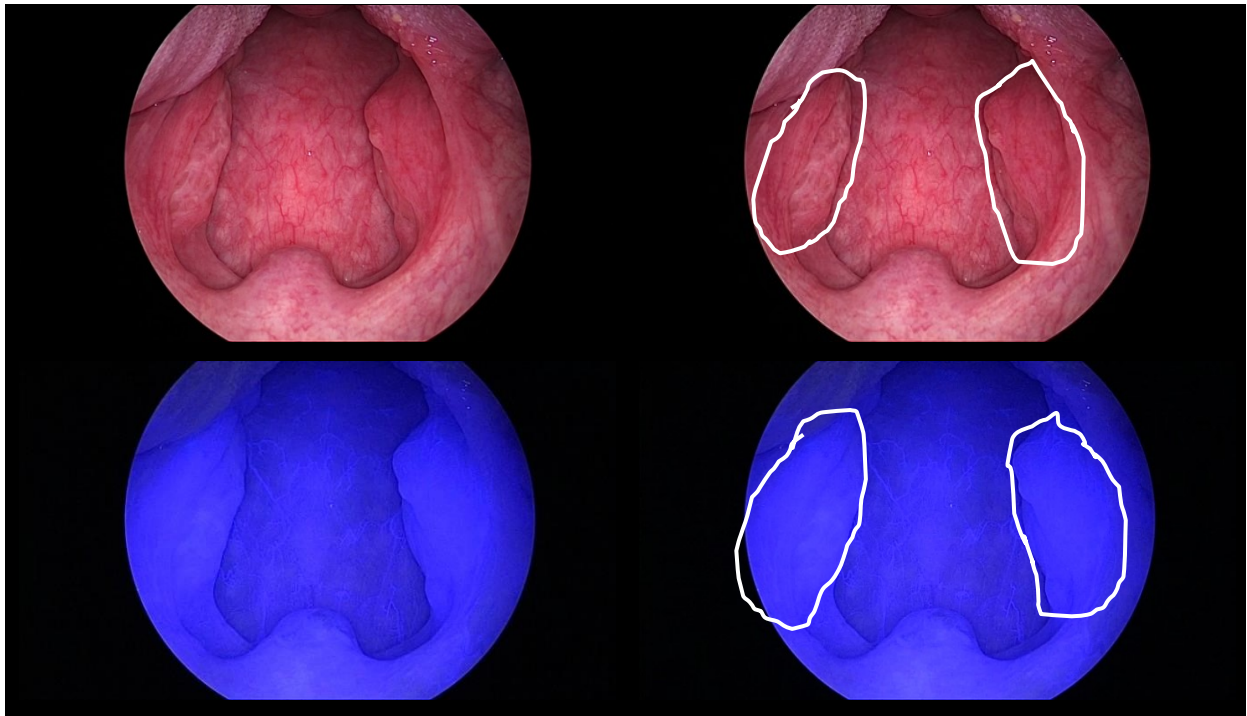


Abb. 19: Normalbefund der Tonsillen im Weißlichtbild (oben) und NIR/ICG-Bild (unten). Im NIR/ICG-Modus zeigt sich eine symmetrische Fluoreszenz der Tonsillen wobei deren Begrenzung identisch zur Weißlichtbetrachtung ist.

5.2.5. Nahbetrachtung von Tumoren mit NIR/ICG-Endoskopie

Bis dato wurden die Tumoren endoskopisch so eingestellt und betrachtet (im Weißlicht und NIR/ICG-Bild), dass eine bestmögliche Übersicht über den gesamten mukösen Tumor sichtbaren war (siehe Abbildung 10, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19). Es wurden nun schließlich einige der Tumoren (13 der 26 Plattenepithelkarzinome) mit Zoom betrachtet. Diese Nahbetrachtung der Tumoroberfläche mit der NIR/ICG-Endoskopie zeigte neben der beschriebenen ICG-Retention in jedem Fall punktförmige pathologische Gefäßstrukturen. Gleichzeitig war das Fehlen normaler länglicher Gefäßstrukturen innerhalb der malignen Tumoren erkennbar. Abbildung 20 stellt dies visuell dar. Mit der im Methodenteil beschriebenen endoskopischen Technik wurden die Befunde optisch so mit einer etwa 10-fachen bis zu 25-fachen Vergrößerung ($magnification = \frac{\text{Image size}}{\text{Real size}}$; Rawal et al. 2015) dargestellt.

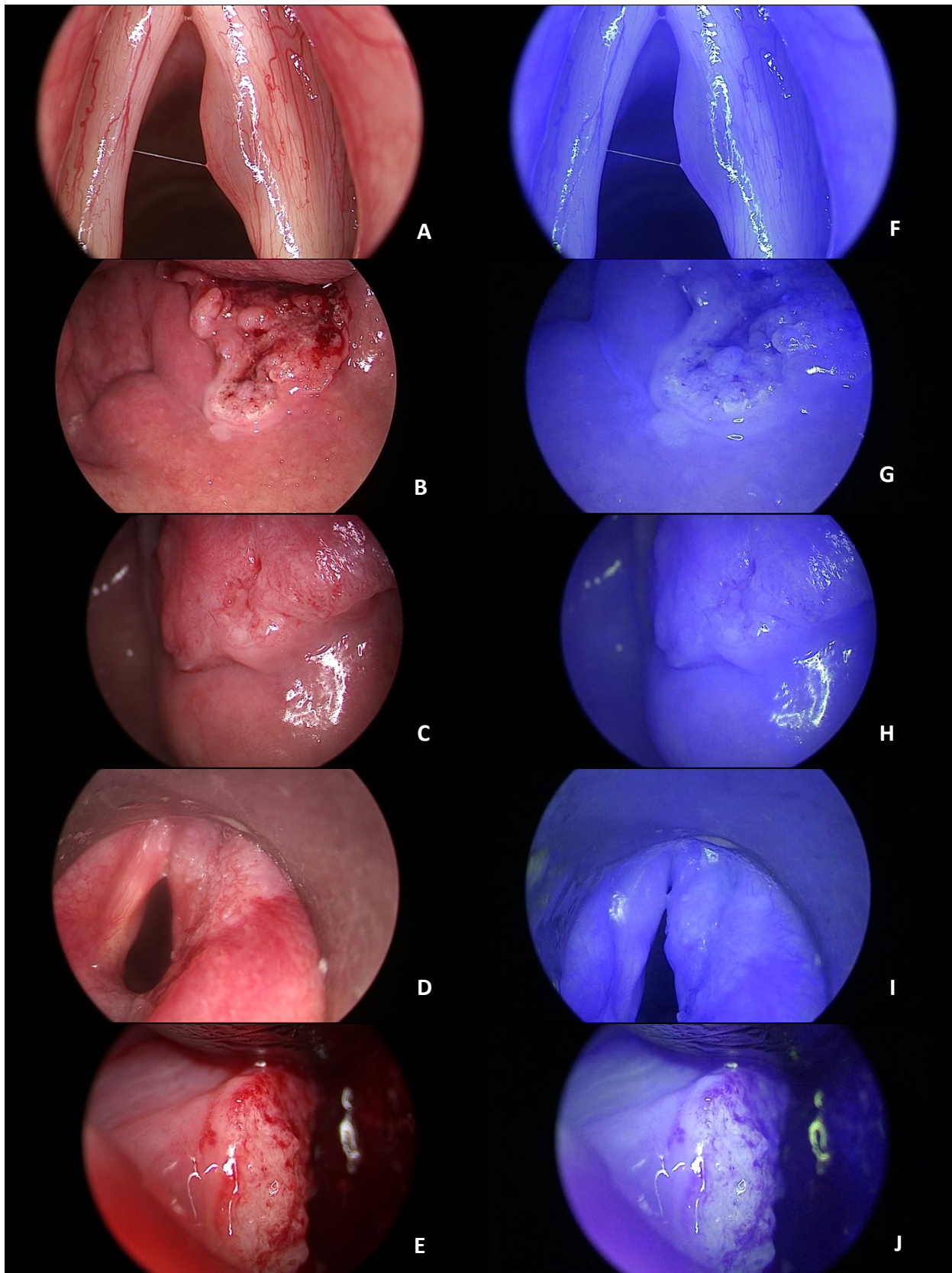


Abb. 20: Endoskopische Nahbetrachtung von Tumoren im Weißlichtbild (links) und NIR/ICG-Bild (rechts). Es sind abnorme, unregelmäßige, punktförmige Gefäßstrukturen auf der Tumoroberfläche von Plattenepithelkarzinomen (G-J) im Vergleich zu normalen longitudinalen Gefäßen der normalen Stimmlippe und des benignen Polypen (A, F) sichtbar.

5.2.6. Blutungen während der NIR/ICG-Endoskopie

Sehr starke Blutungen, welche zu Pooling von Blut in Bereichen des Tumors führten und so die Tumoroberfläche überlagerten schränkten die Beurteilung in dem Bereich ein. Dies wurde durch die starke Fluoreszenz des ICG-angereicherten Blutes selbst verursacht. Dies trat allerdings nur in 3 Fällen in Teilbereichen des betrachteten Tumors auf. In der Regel konnte dies durch eine Biopsie Entnahme nach der NIR/ICG-Videoendoskopie, möglichst atraumatische Einstellung der Tumoren sowie absaugen vermieden werden. Abbildung 21 zeigt dies visuell. Anderweitige Komplikationen traten bei den hier mit der NIR/ICG-Endoskopie untersuchten Patienten nicht auf.

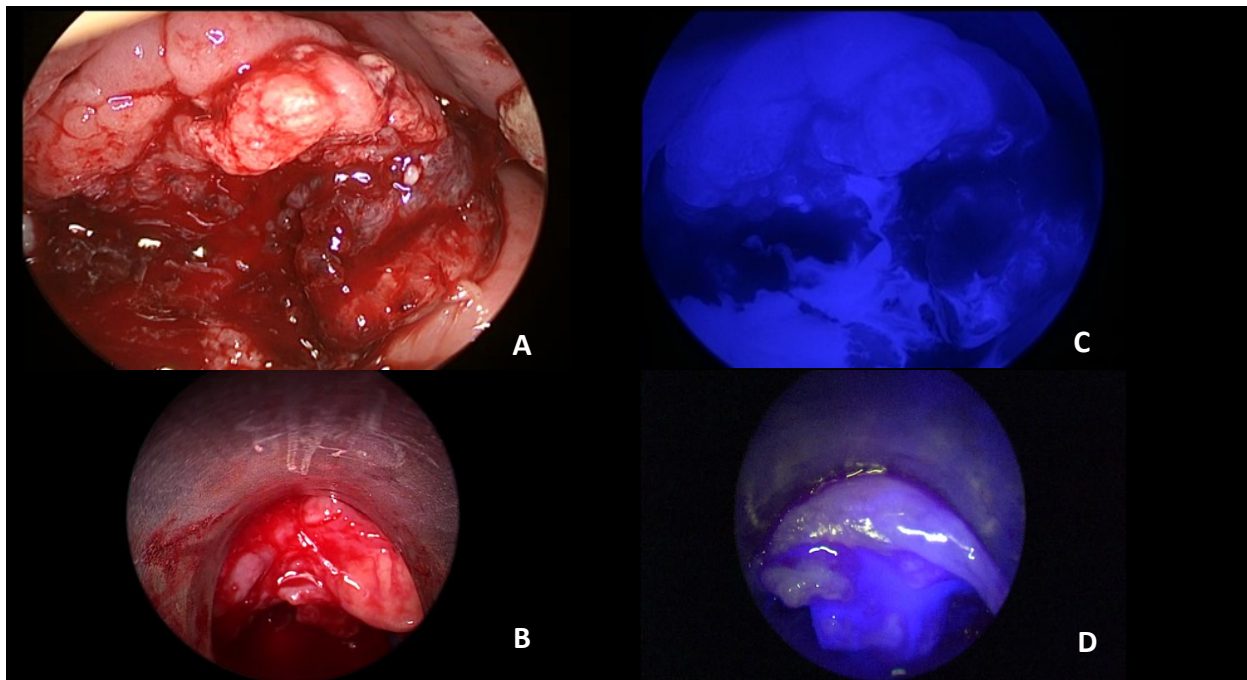


Abb. 21: Maligne Raumforderungen des Kopf-Halses unter Weißlicht (links) und NIR-Endoskopie mit ICG (rechts). Die Tumoren der Mundhöhle (A, C) und des Hypopharynx (B, D) sind ICG-positiv. Pooling von Blut am Boden und in den Ulzerationen des Tumors schränken die Beurteilbarkeit aufgrund der starken Fluoreszenz des im Blutplasma gebundenen ICGs in diesen Bereichen ein. NIR, Nahinfrarot. ICG, Indocyaningrün.

5.3. SPIES Visualisierungstechniken

Das im Methodenteil beschriebene IMAGE1 S NIR/ICG System (KARL STORZ, Tuttlingen) beinhaltet die Option Befunde mit neuen computergestützten Visualisierungstechnologien (SPIES) zu betrachten. Hierbei handelt es sich um Modifikationen des endoskopischen Weißlichtbildes mit homogenerer Ausleuchtung (CLARA), Kontrastanhebung (CHROMA) oder Farbtonverschiebung und –vertauschungen (SPECTRA) (Tabelle 8). Nach der Standard Weißlicht und NIR/ICG-Endoskopie wurden 38 der 83 Befunde mit diesen neuen Modi betrachtet. Die Tumorausdehnung zeigte sich hierbei in jedem Fall identisch zum Weißlichtbild. Es war allerdings eine optimierte Kontrastierung der Mukosaoberfläche zu sehen, wodurch sich insbesondere normale und pathologische Gefäßstrukturen besser voneinander unterscheiden ließen (Tabelle 9). Pathologische Gefäße wurden als unregelmäßige, punktförmige Gefäßstrukturen definiert, welche sich aufgrund ihrer optischen Charakteristik signifikant von normalen longitudinalen Gefäßen unterschieden. Die Abbildungen 22 bis 25 stellen einige Beispiele visuell dar. Gutartige Befunde zeigten in der Regel mit beiden Visualisierungsmethoden normale Gefäße. Plattenepithelkarzinome und SIN III wiesen pathologische Gefäße auf. SPIES war der NIR/ICG-Endoskopie bei der Beurteilung oberflächlicher Gefäßstrukturen von Plattenepithelkarzinomen und normaler Schleimhaut sowie chronischer Entzündung überlegen. Bei SIN II und der Hyperkeratose waren weder mit der NIR/ICG-Endoskopie noch mit SPIES Gefäße sichtbar.

Modus	Änderung des Weißlichtbildes
CLARA	Homogene Ausleuchtung
CHROMA	Kontrastanhebung
SPECTRA	Farbtonverschiebung und –vertauschung
SPECTRA A	Filterung von Rottönen des sichtbaren Lichts
SPECTRA B	Spektrale Farbverschiebung mit Intensivierung der blauen und grünen Lichtanteile

Tabelle 8. Visualisierungstechniken des IMAGE1 S Systems. Aus: https://www.karlstorz.com/cps/rde/xbcr/karlstorz_assets/ASSETS/3544131.pdf.

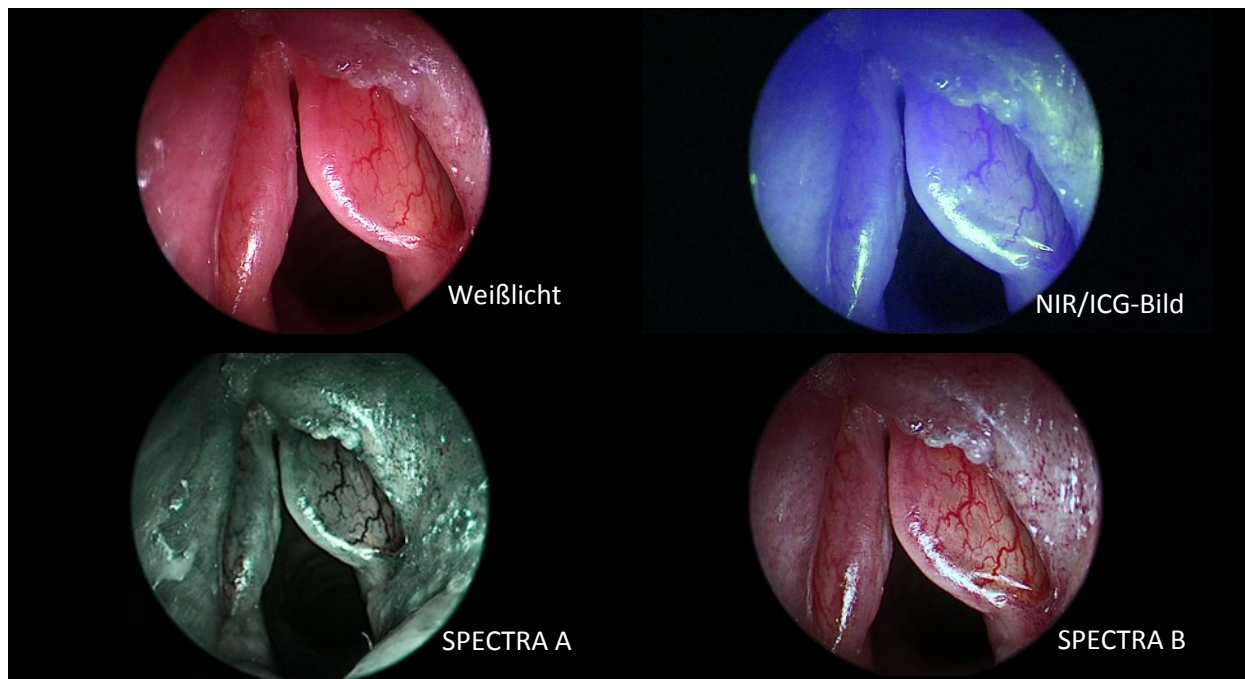


Abb. 22: Endoskopische Darstellung eines Reinke Ödems rechts. Es zeigen sich in jedem Bild normale längliche Gefäße der Stimmlippe. In der SPECTRA A (Filterung von Rottönen) und SPECTRA B (Intensivierung der blauen und grünen Lichtanteile) zeigt eine stärkere Kontrastierung besonders der Gefäßstrukturen.

Histologie (<i>n</i> =38)	Gefäße mit NIR/ICG- Endoskopie			Gefäße mit SPIES		
	normal	abnorm	fehlend	normal	abnorm	fehlend
Plattenepithelkarzinom	0	11	4	0	15	0
Chronische Entzündung	7	1	2	8	1	1
Normale Schleimhaut	3	1	1	4	1	0
SIN II	0	0	2	0	0	2
Reinke Ödem	2	0	0	2	0	0
Zyste	2	0	0	2	0	0
SIN III	0	1	0	0	1	0
Hyperkeratose	0	0	1	0	0	1
Gesamt	14	14	10	16	18	4

Tabelle 9. Evaluation oberflächlicher Gefäße von Kopf-Hals-Befunden mittels NIR/ICG-Endoskopie und SPIES in Relation zum histologischen Befund. ICG, Indocyaningrün. NIR, Nahinfrarot. SIN, squamous intraepithelial neoplasia. SPIES, Storz Professional Image Enhancement System.

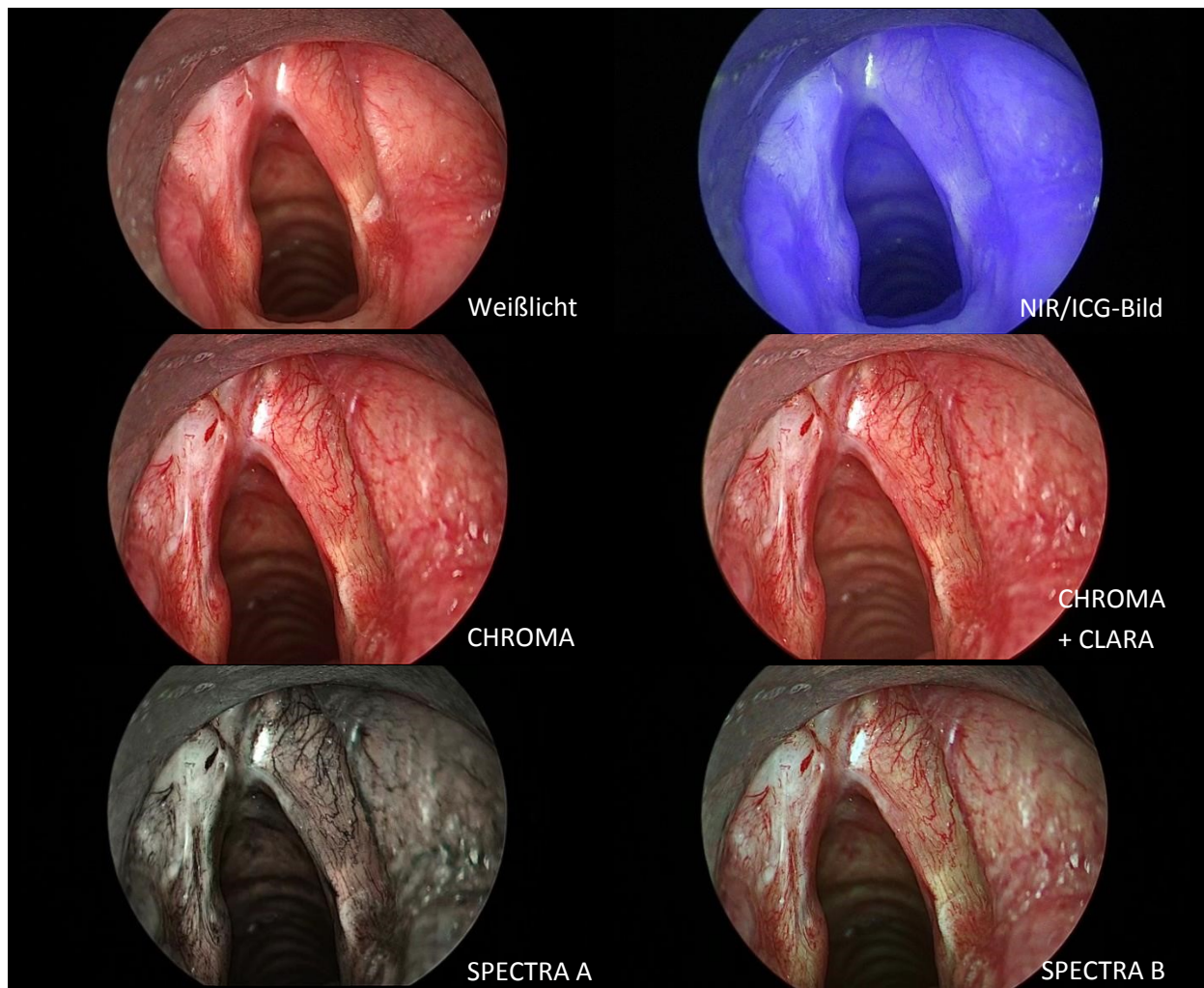


Abb. 23: Vernarbung der vorderen Stimmlippe links nach Voroperation. Darstellung des Befundes mit verschiedenen Visualisierungstechniken. CHROMA zeigt eine Kontrastanhebung im Vergleich zum Weißlichtbild. CHROMA + CLARA zeigen einen verstärkten Kontrast und homogenere Ausleuchtung der tiefen Bildanteile (hier der Trachea). SPECTRA A und B zeigen ebenfalls einen verbesserten Kontrast durch Farbmodifikation sowie insbesondere eine bessere Visualisierung der normalen Gefäßarchitektur des Larynx. Visuell grenzt sich der narbige Bereich hier im NIR/ICG-Bild allerdings am besten ab.

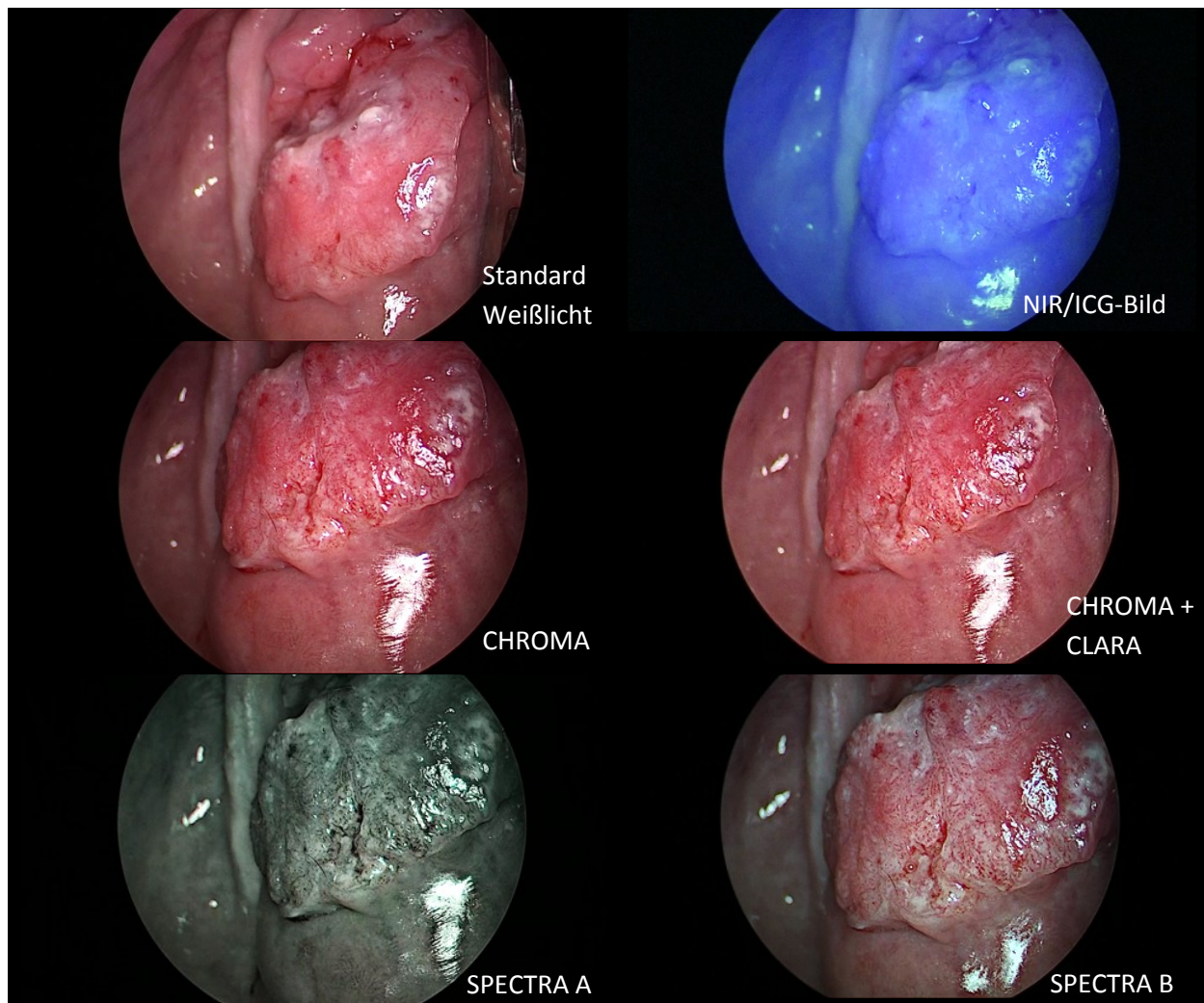


Abb. 24: Plattenepithelkarzinom des Mundbodens dargestellt mit verschiedenen SPIES Visualisierungstechniken. CHROMA zeigt eine Kontrastanhebung im Vergleich zum Weißlichtbild. CHROMA + CLARA zeigen einen verstärkten Kontrast mit homogenerer Ausleuchtung der tiefen Bildanteile. SPECTRA A und B zeigen ebenfalls einen verbesserten Kontrast durch Farbmodifikation sowie insbesondere eine bessere Visualisierung pathologischer punktförmiger Gefäßstrukturen der Tumoroberfläche bei fehlenden normalen Gefäßen. Der Tumorrand grenzt sich in den Modi CHROMA, CLARA und SPECTRA A + B durch verstärkten Kontrast visuell schärfer ab und verläuft identisch zum Weißlichtbild oben links.

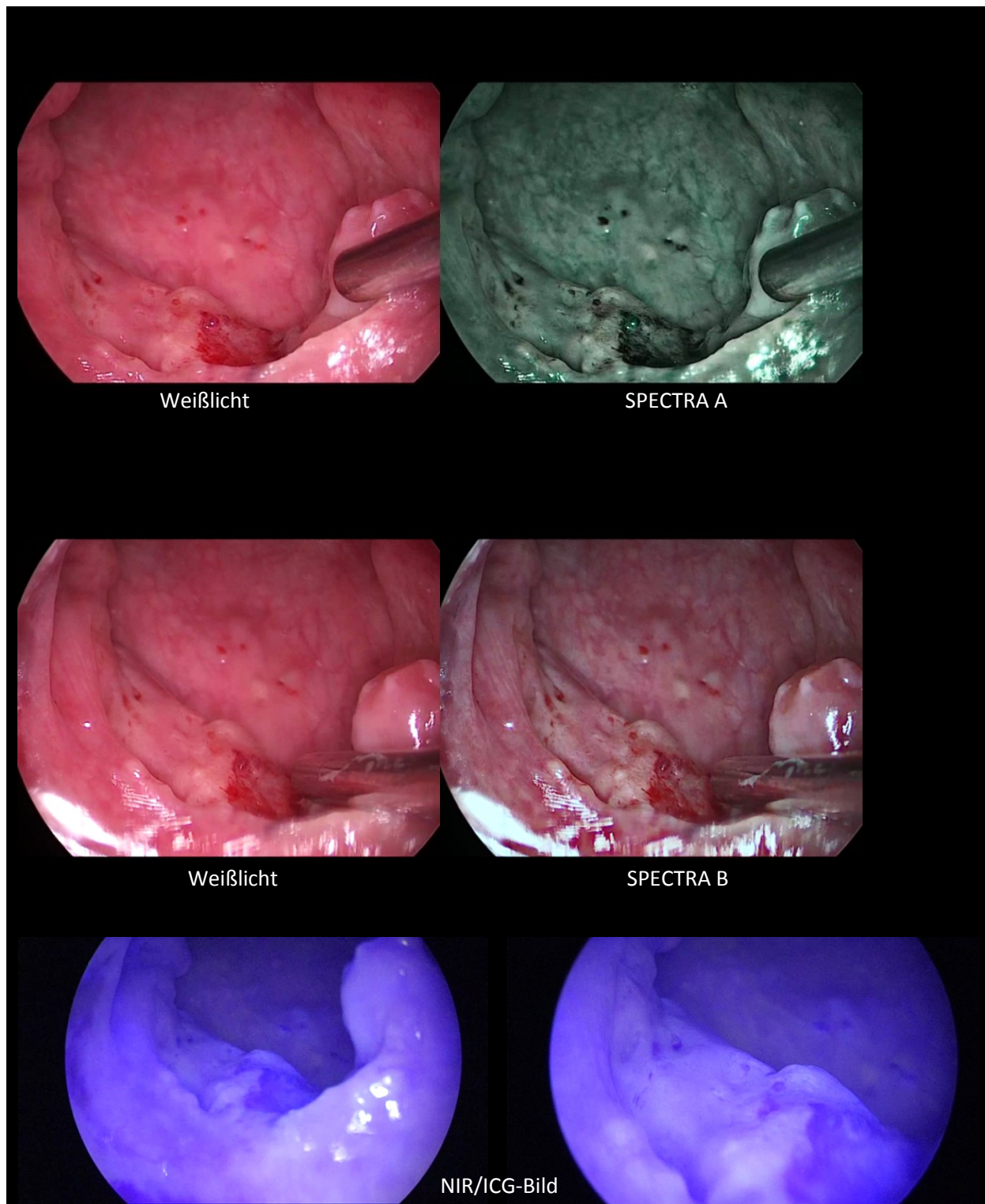


Abb. 25: Plattenepithelkarzinom des Gaumens dargestellt mit verschiedenen Visualisierungstechniken. SPECTRA A und B zeigen durch einen verbesserten Kontrast eine bessere Visualisierung pathologischer punktförmiger Gefäßstrukturen des Tumors, welche sich von normalen Gefäßen der Rachenhinterwand deutlich abgrenzen. Hier scheint auch ein pathologischer Befund an der Rachenhinterwand vorzuliegen. Im NIR/ICG-Bild grenzt sich der Tumor sehr gut zur rechten Tonsille ab; pathologische Tumorgefäße sind ebenso im NIR/ICG-Modus sichtbar sowie ein ICG-positiver Befund der Rachenhinterwand. NIR, Nahinfrarot. ICG, Indocyaningrün.

6. Diskussion

6.1. Rekapitulation relevanter Ergebnisse der Studie

In der hier beschriebenen Studie konnte demonstriert werden, dass die in vivo NIR-Fluoreszenz-Endoskopie mit ICG zur diagnostischen Abklärung von Kopf-Hals-Tumoren eine wertvolle Ergänzung zur konventionellen Weißlichtendoskopie darstellen kann. Die vergleichende Betrachtung von Normalbefunden und gutartigen Raumforderungen mit WLE vs. NIR/ICG-Endoskopie demonstrierte generell sehr gut sichtbare, normale, longitudinale, submuköse Gefäße. Benigne Raumforderungen selbst zeigten in den allermeisten Fällen keine starke ICG-Fluoreszenz (ICG-negativ). Diese ICG-Negativität der meisten gutartigen Raumforderungen wurde allerdings von durchziehenden, offensichtlich normalen Gefäßstrukturen unterbrochen. Dieses charakteristische Erscheinungsbild war besonders gut bei der Beurteilung der Stimmlippen zu sehen, zeigte sich aber generell in allen Unterregionen des Kopf-Hals-Bereiches. Ausnahmen stellten Hyperkeratosen und Leukoplakien dar, welche ebenfalls ICG-negativ waren aber kein sichtbares Gefäßnetzwerk aufwiesen. Die wenigen gutartigen Befunde, welche eine (falsch positive) ICG-Fluoreszenz generierten beliefen sich hauptsächlich auf chronisch entzündliche Gewebsstrukturen (4 von 6) wie beispielsweise die Tonsillen.

Maligne Tumoren, genauer gesagt Plattenepithelkarzinome (26), hochgradige Dysplasien (SIN III; 4) sowie Lymphome (2) des Kopf-Hals-Bereichs zeigten eine signifikante, kräftige ICG-Fluoreszenz (ICG-positiv). Die ICG-Positivität dieser Tumoren ergab innerhalb von Sekunden nach intravenöser Gabe eine deutliche Kontrastierung der Tumoren und diese war in der hiesigen Studie persistierend über den Untersuchungszeitraum (Durchschnittlich 3 Minuten, Streubreite 1 - 12 Minuten). Normale longitudinale Gefäßstrukturen waren innerhalb dieser ICG-positiven Tumoren nicht mehr sichtbar. Die diagnostische Sicherheit der NIR/ICG-Positivität (Ja, Nein) einen malignen Tumor (Ja, Nein) vorherzusagen war mittels Kreuztabellenanalyse statistisch signifikant ($p < 0.001$). Die ICG-Positivität während der NIR-Endoskopie als Marker für maligne Kopf-Hals-Tumoren zeigte eine Sensitivität von 94,1% und Spezifität von 85,7%. Die Test-Genauigkeit betrug 89,2%. Der Positiv prädiktive Wert war 82,1%; der Negativ prädiktive Wert 95,5%. Bei den wenigen (2) falsch ICG-negativen Plattenepithelkarzinomen handelte es sich um Rezidiv Tumoren nach vorangegangener Therapie. Des Weiteren zeigten viele maligne Tumoren (77% der Fälle) eine größere ICG-positive Fluoreszenz im Vergleich zur Tumorausdehnung mit WLE. Die wenigen ICG-positiven benignen Befunde hingegen zeigten eine begrenzte Fluoreszenz,

welche sich identisch oder kleiner als der Befund mittels WLE zeigte. Die zusätzliche ICG-positive Fläche um maligne Tumoren war ebenfalls durch die Absenz normaler Gefäße gekennzeichnet. Die Nahbetrachtung von Plattenepithelkarzinomen mit einer 10-fachen bis zu 25-fachen Vergrößerung (Zoom) mit der NIR/ICG-Endoskopie zeigte anstelle von normalen pathologische, feine, unregelmäßige, punktförmige Gefäßstrukturen der Tumoroberflächen. Weiterhin wurden 38 der 83 Befunde zusätzlich mit dem SPIES betrachtet. Vorteilhaft erschien hierbei eine optimierte Kontrastierung der Mukosaoberflächen, wodurch sich normale und pathologische Gefäßarchitekturen besser voneinander unterscheiden ließen. Gutartige Befunde zeigten in der Regel mit beiden Visualisierungsmethoden normale Gefäße. Plattenepithelkarzinome und SIN III wiesen abnorme, pathologische Gefäße auf. SPIES schien der NIR/ICG-Endoskopie bei der Beurteilung oberflächlicher Gefäßstrukturen von Plattenepithelkarzinomen und normaler Schleimhaut sowie chronischer Entzündung überlegen. Bei SIN II und der Hyperkeratose waren weder mit der NIR/ICG-Endoskopie noch mit SPIES Gefäße sichtbar. Die Größenausdehnung der Tumoren war mit SPIES identisch zur WLE.

6.2. Stärken und Limitationen der Studie

Der Vorteil der NIR/ICG-Endoskopiemethode ist, dass neben dem IMAGE1 S NIR/ICG System (KARL STORZ, Tuttlingen) seit längerem mehrere lizenzierte NIR-Kamerasysteme auf dem Markt verfügbar sind. Tabelle 10 sowie Abbildung 26 gibt einen Überblick hierzu. Da der HNO-Chirurg mit endoskopischen Operationsmethoden vertraut ist, erforderte die NIR-Fluoreszenzendoskopie keine Lernkurve. Außerdem konnte mit ICG ein seit langem zugelassenes, sicheres, günstiges Fluorochrom genutzt werden. Das Nahinfrarotlicht beeinträchtigte die Sicht des Chirurgen nicht und es konnte problemlos zwischen konventioneller weißlichtendoskopischer, NIR-Ansicht oder SPIES durch Fußschalter und Knopfdruck am Kamerakopf umgeschaltet werden.

Imaging system	Excitation source	Working distance	Field of view	White light illumination of surgical field	NIR-colour overlay
PDE	LED 805 nm, power NS	15-25 cm	NS	No	No
SPY	Laser 806 nm, 2.0 W	30 cm	56 cm ²	No	No
Fluobeam	Laser 780 nm, 10mW/cm ²	22cm	80 cm ²	Yes	No
HyperEye	LED 760 nm, power NS	30-50 cm	78.5 cm ²	Yes	Yes
FLARE	LED 745-779 nm, 14mW/cm ²	45 cm	3.7 cm ² -169.5 cm ²	Yes	Yes
Mini-FLARE	LED 760 nm, 8.6 mW/cm ²	30 cm	100 cm ²	Yes	Yes
FDPM imager	Laser Diode 785 nm \pm 10 nm, <1.9mW/cm ²	<76.2 cm	Max 900 cm ²	No	No
Munich/SurgOptix prototype camera system	Laser 750 nm, 300 mW	21 cm	1.5 cm ² -107 cm ²	Yes	Yes

Tabelle 10. Auswahl klinischer Nahinfrarot-Kamerasysteme. PDE, Photodynamic Eye. LED, Light emitting diode, NS, not specified. FLARE, Fluorescence-Assisted Resection and Exploration, FDPM, Frequency Domain Photon Migration. Aus: (Schaafsma et al. 2011).

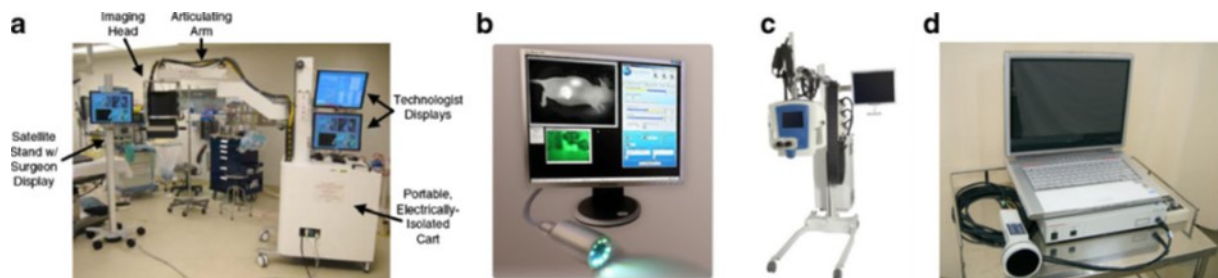


Abb. 26: Auswahl intra-operativer Nahinfrarot-Kamerasysteme: a FLARE™ camera system (www.frangionilab.org). b Artist impression von Fluobeam™ (www.fluooptics.com). c Artemis™ camera system (www.O2view.com). d Photodynamic Eye (Hamamatsu Photonics, Hamamatsu City, Japan). (Keereweer et al. 2011).

Die reine Operationszeit verlängerte sich durch das Verfahren in der hiesigen Untersuchung im Durchschnitt nur um 3 Minuten (mit einer Streubreite von 1 bis 12 Minuten), was der Zeit der Videoaufzeichnungen entsprach. Das Anfertigen der intravenösen ICG-Lösung und Setup des Kamerasystems konnte parallel zur Narkoseeinleitung durchgeführt werden und verursachte daher keine Verzögerung der Panendoskopien. Der begrenzte

Untersuchungszeitraum nach ICG-Injektion stellt allerdings eine Limitation der Studie dar, da ICG selbst eine Halbwertszeit von etwa 3 Minuten hat (Kitano und Kim 1997).

Der Kontrast, also die tumor-to-background ratio war visuell eindrucksvoll, was auf die geringe Autofluoreszenz zurückzuführen ist (Schaafsma et al. 2011). Allerdings war es in Regionen, welche ein sehr dichtes Netzwerk submuköser Gefäße aufwiesen unter Umständen schwieriger benigne von malignen Befunden abzugrenzen. Gewebe wie das lymphatische Gewebe des Waldeyerschen-Rachenrings, Papillome und andere gutartige Raumforderungen beziehungsweise hyperpermetable entzündete Gewebe zeigten in einigen Fällen eine falsch positive ICG-Fluoreszenz. In der aktuellen Studie zeigt sich dies an einer im Vergleich zu Sensitivität (94,1%) bei 85,7% liegenden Spezifität. Letztendlich muss bedacht werden, dass ICG in Bezug auf Kopf-Hals-Tumoren ein unspezifisches (non-targeted) Fluorochrom ist.

Interessanterweise half das ICG-Signal nicht nur bei der Differenzierung zwischen benignen und malignen Raumforderungen, sondern auch bei der Unterscheidung verschiedener gutartiger Befunde. Normale submuköse Gefäße der betrachteten Kopf-Hals-Schleimhautregionen waren in jedem Fall ICG-positiv. Nicht-maligne Hyperkeratosen und Leukoplakien zeigten sich ICG-negativ, wiesen aber im Vergleich zu anderen gutartigen Befunden keine ICG-positiven Gefäße auf. Möglicherweise überdeckte die Hyperplasie in diesen Fällen die Fluoreszenz von Gefäßen tieferer Schichten. Zukünftige Studien sollten zeigen wie dick eine solche Hyperplasie sein muss um Gefäße zu überdecken. Dies ist bedeutend, da es ein relevanter Faktor bei falsch negativen malignen Tumoren sein könnte.

Starke Blutungen, welche zur Beeinträchtigung des Sichtfeldes durch Pooling von Blut auf der Tumoroberfläche führten traten nur in 3 Fällen auf. Dieses Problem konnte durch eine Biopsie-Entnahme nach der NIR/ICG-Videoendoskopie, atraumatische Einstellung der Tumoren sowie absaugen umgangen werden. Anderweitige Komplikationen wie zum Beispiel allergische oder anaphylaktoide Reaktionen durch ICG wurden in der aktuellen Studie nicht beobachtet.

Die tiefere Gewebseindringtiefe von etwa 5 bis 10 mm ist ein Vorteil gegenüber anderen optischen Untersuchungsmethoden (wie zum Beispiel Autofluoreszenz, konfokaler Endomikroskopie oder optischer Kohärenztomographie) aber immer noch nicht ausreichend um größere Tumoren (>T1) vollständig zu erfassen (Rosenthal et al. 2015, Davaris et al. 2018). Die aktuelle Studie liefert allerdings keine Antwort über die exakte Eindringtiefe der ICG-Fluoreszenz. Die NIR/ICG-Endoskopie der Tumoren erfolgte vor der Entnahme der

Gewebebiopsien, welche vom entsprechenden Tumor unter WLE entnommen wurden. Es erfolgte somit keine systematische Korrelation der gesamten ICG-positiven Fluoreszenzflächen mit dem histopathologischen Ergebnis. Zukünftige Studien sollten das NIR/ICG-Bild systematisch in Quadranten einteilen und entsprechend mit multiplen Biopsien abzugleichen.

Die Testgenauigkeit (89,2%), Sensitivität (94,1%) und Spezifität (85,7) maligne Tumoren im Kopf-Hals-Bereich mit der NIR/ICG-Methode vorherzusagen war zufriedenstellend. Es sollte darauf hingewiesen werden, dass die Auswertung der NIR/ICG-Bilder offline anhand intraoperativ aufgezeichneter Videodaten erfolgte. Des Weiteren muss betont werden, dass der ICG-Kontrast und damit die Beurteilung von Befunden als ICG-positiv oder ICG-negativ rein subjektiv visuell durch einen einzelnen Untersucher erfolgte, sodass es der Studie diesbezüglich an Objektivität mangelt.

6.3. Studienergebnisse im Kontext bisheriger Literatur

6.3.1. ICG bei anderen soliden Tumoren

Zur direkten Visualisierung von soliden Primärtumoren wurde die NIR/ICG-Fluoreszenz bisher in einer Reihe von Studien bei Magenkarzinomen (Mataki et al. 2003, Kimura et al. 2007), hepatozellulären Karzinomen (Gotoh et al. 2009, Ishizawa et al. 2014), Metastasen kolorektaler Karzinome (van der Vorst et al. 2013, Liberale et al. 2017), Kolontumoren (Watanabe et al. 2009), pulmonalen Tumoren (Okusanya et al. 2014) und Mammakarzinomen (Tummers et al. 2014, Keating et al. 2016) angewendet. Indocyaningrün ist kein zielgerichtetes Agens und es ist nicht tumorspezifisch. Nach intravenöser Gabe wird es schnell an Plasmaproteine, genauer gesagt Albumin, Globuline und Alpha-1 Lipoprotein, gebunden (Hope-Ross et al. 1994). Diese ICG-Protein-Komplexe mit einer Größe von 4–6 nm verbleiben im Gefäßsystem und diffundieren unter physiologischen Bedingungen nicht in den extravasalen Raum (Holt et al. 2014). Es wird vermutet, dass neu formierte, porösere Blutgefäße sowie abnorme peri-tumorale lymphatische Strukturen von Tumoren Gründe für die verstärkte Permeabilität und passive Akkumulation bzw. Retention von ICG sind (Schaafsma et al. 2011). Die Neoangiogenese spielt eine bedeutende Rolle bei der Progression der meisten soliden Tumoren, so auch bei Kopf-Hals-Tumoren (Goel und Mercurio 2013, Vassilakopoulou et al. 2015). Hypoxie triggert dabei die Freisetzung von Vascular endothelial growth factor (VEGF), was unter anderem zur Auflösung von Teilen der Basalmembran durch Proteasen führt (Christopoulos et al. 2011). Dies bedingt eine erhöhte vaskuläre

Permeabilität (Hicklin und Ellis 2005). Abbildung 27 stellt dies schematisch dar. In der aktuellen Studie führte dies zur Retention von ICG innerhalb maligner Kopf-Hals-Tumoren und wurde sogar in prä-malignen Läsionen und frühen Glottiskarzinomen (SIN III oder T1 Karzinom) beobachtet. Hagen et al stellte 2009 bei Mammakarzinomen die erhöhte vaskuläre Permeabilität für Makromoleküle dar, welche in einer extravasalen Anreicherung des ICG in neoplastischem Gewebe im Vergleich zum Normalgewebe resultierte. Dies erfolgte durch Messung der ICG-Konzentrationen im Tumor und Gefäßbett zu verschiedenen Zeitpunkten. Während ICG durch das hepatobiliäre System schon aus dem Blutkreislauf schon eliminiert worden war, wurde es in den Mammakarzinomen noch nachgewiesen (Hagen et al 2009). Letztlich kann die unspezifische ICG-Anreicherung in Tumoren, unabhängig vom wahren physiologischen Grund, zur Tumordiagnostik genutzt werden. Allerdings impliziert diese Permeabilitätstheorie auch, dass physiologisch stark durchblutete Gewebe wie das lymphatische Gewebe des Waldeyerschen-Rachenrings und andere gutartige Raumforderungen beziehungsweise hyperpermetable entzündete Gewebe eine falsch positive ICG-Anreicherung zeigen können. In der aktuellen Studie zeigt sich dies an einer im Vergleich zu Sensitivität (94,1%) bei 85,7% liegenden Spezifität. Holt et al wies bei pulmonalen Tumoren darauf hin, dass mit der ICG Methode Tumoren zwar mit hoher Sicherheit detektiert werden können, Resultate jedoch durch die ICG Anreicherung in peritumoralen entzündlichen Geweben falsch positiv sein können und die Methode dahingehend Limitationen aufweist. In Holts Studie wurden 5 Patienten (2 Bronchialkarzinome, 1 Karzinoid, 1 Thymom, 1 Sarkom der Thoraxwand) untersucht. In einem (von 5) Fall war distal der durch den Chirurgen konventionell bestimmten Tumorgrenze histologisch Tumor nachweisbar wobei auch das ICG Signal die konventionell bestimmte Tumorgrenze übertroffen hatte (Holt et al. 2014).

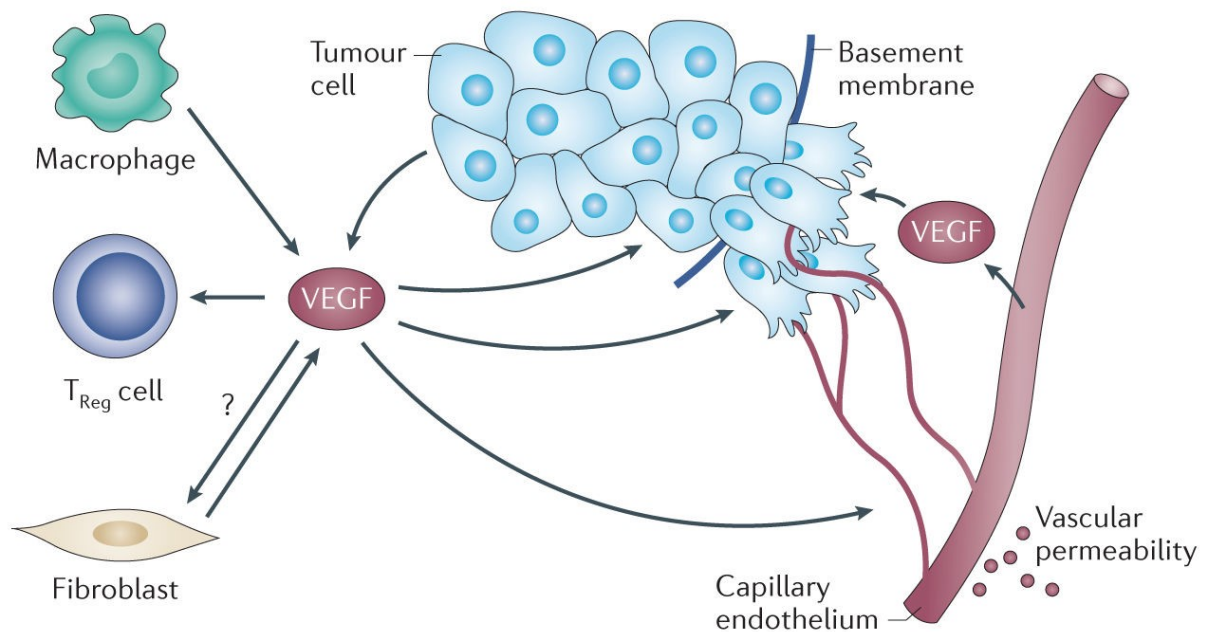


Abb. 27: Bedeutung von VEGF in Tumoren. VEGF wird von Tumorzellen, Stromazellen, Makrophagen, Endothelzellen und Fibroblasten sezerniert und hat verschiedene Funktionen in der Tumorregion. Die Interaktion von VEGF und VEGF-Rezeptoren auf der Oberfläche von Zellen generiert unter anderem Neoangiogenese. VEGF-Rezeptor vermittelte Signalwege führen zur Migration von Endothelzellen, Degradation und Remodelling der extrazellulären Matrix. Dies führt zur Formation neuer Blutgefäße. Weiterhin erhöht VEGF die vaskuläre Permeabilität. VEGF, Vascular endothelial growth factor. (Goel und Mercurio 2013).

6.3.2. ICG bei Kopf-Hals-Tumoren

Im Rahmen des klinischen Managements von malignen Kopf-Hals-Tumoren wurde die Nahinfrarot Fluoreszenzbildgebung schon zur Sentinel Lymphknotendiagnostik eingeführt. Diesbezügliche Untersuchungen ergaben vielversprechende Resultate, sodass dieses Verfahren zur Visualisierung lymphatischer Strukturen des Halses eine echte Alternative zum Goldstandard mit radioaktivem Technetium zu sein scheint (Schaafsma et al. 2011, Zelken und Tufaro 2015). Nach Wissensstand des Autors beschrieb Yokoyama et al. 2013 erstmals den Einsatz der NIR-Endoskopie mit ICG (0,5 mg/kg i.v.) bei Kopf-Hals-Tumoren bei 9 Patienten. Es wurden 5 Primärtumoren und 4 Lymphknotenmetastasen betrachtet. Alle 5 Primärtumoren der Mundhöhle und des Oropharynx in dieser Studie waren ICG-positiv. Alle Tumoren zeigten eine: „helle Fluoreszenzemission, welche sich deutlich von normalen Strukturen abhob“ (Yokoyama et al. 2013). Dabei wurde die ICG-Fluoreszenz bei den Patienten zu 7 verschiedenen Zeitpunkten (0 bis zu 360 min) nach intravenöser ICG-Injektion aufgezeichnet und es wurde ein 6-stufiger subjektiver NIR Fluoreszenz imaging visibility score zur Auswertung genutzt (Tabelle 11).

0	Läsion nicht sichtbar
1	Kontrast zeigte eine Läsion, die kaum sichtbar war
2	Schwacher Kontrast, sodass Läsion nur mit Wissen ihrer Lokalisation detektierbar war
3	Kontrast der Läsion deutlich sichtbar aber geringer als umgebende Strukturen
4	Kontrast der Läsion war identisch zum umliegenden Gewebe
5	Kontrast der Läsion dominierte das Bild

Tabelle 11. Subjektiver 6-stufiger NIR Fluoreszenz imaging visibility score. Aus: (Yokoyama et al. 2013).

Alle 5 Primärtumoren bei Yokoyama wurden jeweils mindestens mit einem score von 3 bewertet und 4 der 5 Tumoren zu mindestens einem Zeitpunkt mit 5 (Kontrast der Läsion dominierte das Bild). Im Vergleich zum NIR Fluoreszenz imaging visibility score wurde in der hier beschriebenen Studie eine 2-stufige ICG-Bewertung (positiv oder negativ) genutzt, welche intraoperativ schnell und einfach handhabbar ist. Ziel Yokoyamas Studie war es den Zeitpunkt des stärksten Tumor-Normalgewebe-Kontrast zu bestimmen und damit das optimale Zeitfenster für eine chirurgische Tumorsektion. Der maximale Kontrast zwischen Tumor und Normalgewebe wurde in Yokoyamas Untersuchung zwischen 30-60 Minuten nach ICG-Gabe festgestellt. Es wurde allerdings auch innerhalb der ersten Minuten eine ICG-Positivität der Tumoren dokumentiert wobei 4 der 5 Tumoren mindestens einen Score von ≥ 3 im Zeitraum 0-10 Minuten aufwiesen. Die ICG-Retention in den Tumoren war bis zu 6 Stunden nach der systemischen Gabe nachweisbar, hatte sich nach 12 Stunden aber abgebaut. Es wurde geschlussfolgert, dass das Verfahren eine sinnvolle Hilfe zum Erzielen einer R0-Resektion und der Reduktion operationsbedingter Morbidität im Rahmen einer sogenannten Fluoreszenz image-guided surgery sein kann. Es wurde aber auch darauf hingewiesen, dass die ICG Anreicherung sehr wahrscheinlich nicht spezifisch auf malignes Gewebe begrenzt ist und auch entzündliches Gewebe und traumatisiertes Gewebe ICG akkumulieren könnte.

Yokoyamas Studiengruppe veröffentlichte 2014 eine Untersuchung von 36 Patienten mit sinusalen Karzinomen, welche einer konventionellen CT Angiografie sowie ICG-Angiografie unterzogen wurden. Sämtliche Tumoren waren ICG-positiv durch ICG

Anreicherung durch die zuführenden Arterien, welche in jedem Fall identifiziert werden konnten. Dies war besonders hilfreich zur zielgerichteten intraarteriellen Chemotherapie, in Situationen, wo eine CT-Angiografie aufgrund von Metall Artefakten von Zahnprothesen oder Tumorinfiltration der (Schleim-)Haut Limitationen hatte (Yokoyama et al. 2014). Digonnet et al. untersuchte 2016 bei 11 Patienten mit der NIR/ICG-Methode den Halslymphknotenstatus bei Kopf-Hals-Tumoren nach intravenöser Applikation von ICG (0,25 mg/kg) als Weiterentwicklung der SLN Methode. In dem Rahmen wurde bei 5 Patienten auch der Primärtumor selbst betrachtet. 4 der 5 Primärtumoren waren dabei ICG-positiv (80% vs. 89% der SIN III Läsionen und malignen Tumoren in der aktuellen Studie). Bei einem Patienten war nach initialer Tumorsektion ein persistierendes ICG-Signal im Tumorbett sichtbar, was sich bei Nachresektion histologisch als maligne herausstellte. Die anderen 3 Patienten zeigten nach vollständiger Tumorsektion ein ICG-negatives Tumorbett und histologisch tumorfreie Ränder in der Schnellschnittdiagnostik. Der ICG-negative Tumorpatient der Studie wies in der Vorgeschichte eine zweimalige Radiotherapie und eine Voroperation auf, was möglicherweise die biologischen Gewebeeigenschaften beeinflusst hatte (Digonnet et al. 2016). Auch in der aktuellen Studie handelte es sich bei den falsch ICG-negativen Tumoren um Rezidive. Digonnet gab den Grad der ICG-Fluoreszenz anhand von arbitrary units (AUs) an, was allerdings ebenfalls eine relative Messgröße darstellt, welche am Präparat ex vivo durch das Institut für Pathologie bestimmt wurde (Digonnet et al. 2016).

Die beschriebenen Ergebnisse, wie auch die hier durchgeführte Studie bestätigen, dass ICG-Positivität, wie schon bei anderen soliden Tumoren belegt, ein Marker für Kopf-Hals-Tumoren ist. Es wurden keine Komplikationen oder Nebenwirkungen bei den hier mit der NIR/ICG-Endoskopie untersuchten Patienten beobachtet. In der Literatur wird beschrieben, dass die intravenöse Bolusinjektion von 0.5 mg/kg Körpergewicht ICG und mehr ein erhöhtes Risiko anaphylaktoider, wahrscheinlich pseudoallergischer Reaktionen verursacht mit der Angabe einer sehr variablen Inzidenz von 1:30 bis 1:40000 (Speich et al. 1988). Allerdings ergab die intravenöse Applikation einer höheren Konzentration von 1-5mg/kg ICG im Rahmen von 1923 Videoangiographien in der Augenheilkunde ergab nur drei (0.15%) milde, vier (0.2%) mittelgradige und eine (0.05%) hochgradige unerwünschte Nebenwirkung, was die Sicherheit der Substanz unterstreicht (Hope-Ross et al. 1994). Interessanterweise wurde in der hiesigen Studie nur 8.3 mg ICG pro Patient (was nur 0,12 mg/kg bei einem Patienten mit 70 kg Körpergewicht entspricht) benötigt um eine sehr gute ICG-Fluoreszenz innerhalb von Sekunden sowie den ersten Minuten nach intravenöser ICG-Applikation zu beobachten. Wie erwähnt beschrieb Yokoyama den besten Kontrast nach 30-60 Minuten mit einer ICG-

Konzentration von 0,5 mg/kg Körpergewicht. Digonnet konnte ICG-positive Tumoren mit einer Konzentration von 0,25 mg/kg darstellen. Es kann nur vermutet werden, dass die Visualisierung der Fluoreszenz in einem sehr breiten Spektrum der ICG-Konzentration möglich ist oder das hier verwendete Kamerasystem besser in der Lage war das ICG-Signal zu detektieren.

Zuletzt wurden schon zielgerichtete tumor-spezifische Fluoreszenzstoffe, welche Licht im NIR-Bereich emittieren eingeführt (Nagaya et al. 2017). Tumor-spezifische Antikörper wie Cetuximab (EGFR-Antikörper) oder Bevacizumab (VEGF-Antikörper) wurden mit einem Fluorophon konjugiert und generierten nach Bindung an den Rezeptor eine spezifische Fluoreszenz (Rosenthal et al. 2015, Gao et al. 2018). Diese Substanzen könnten unspezifische Stoffe wie ICG in der Zukunft ablösen und zu einer noch besseren Test-Genauigkeit und stärkerem Kontrast (Tumor-to-background ratio) führen.

Abgesehen von der ICG-Positivität ist besonders die Abgrenzung der wahren Tumorgrenzen von gesundem Gewebe im Rahmen der sogenannten image-guided surgery von besonderem Interesse (Keereweer et al. 2013). In der aktuellen Studie erschienen die Tumorgrenzen größer als unter der Weißlichtendoskopie. Allerdings erfolgte keine systematische Analyse der Korrelation der wahren histologischen Grenzen mit den NIR/ICG-Bildern. Das ausgedehntere ICG-Signal in der aktuellen Studie könnte an peri-tumoralem entzündlichem Gewebe liegen. Andererseits könnte die zusätzliche ICG-positive Fläche mit Weißlichtendoskopie nicht eindeutig erkennbare Tumorausläufer, Dysplasien oder präkanzeröse epigenetische Schleimhautveränderungen im Sinne einer Feldkanzerisierung repräsentieren. Digonnets Ergebnisse mit positivem ICG-Signal bei Vorliegen eines malignen Tumors und ICG-negativem Signal des Tumorbetts nach vollständiger Resektion unterstützt letztere Theorie (Digonnet et al. 2016).

6.3.3. SPIES Visualisierungstechniken

In unserer Untersuchung wurden 38 der Tumoren vergleichend mittels NIR/ICG-Endoskopie und mit dem Storz Professional Image Enhancement System (SPIES) betrachtet. Die Tumorausdehnung zeigte sich hierbei in jedem Fall identisch zum Weißlichtbild, was nicht verwundert, da das Verfahren auf einer Farbtonalteration des sichtbaren Weißlichtspektrums basiert. Mit SPIES war allerdings eine optimierte Kontrastierung oberflächlicher Strukturen zu sehen, wodurch eine bessere Konturierung von mukösen Befunden, insbesondere normaler und pathologischer Gefäßstrukturen sichtbar war. SPIES war der NIR/ICG-Endoskopie bei

der Beurteilung oberflächlicher Gefäßstrukturen von Plattenepithelkarzinomen und normaler Schleimhaut sowie chronischer Entzündung überlegen. Bei SIN II und der Hyperkeratose waren weder mit der NIR/ICG-Endoskopie noch mit SPIES Gefäße sichtbar, was sehr wahrscheinlich an der begrenzten Eindringtiefe der Verfahren liegt. SPIES beruht ähnlich wie das seit 2005 in der Kopf-Hals-Tumordiagnostik verbreitete Narrow Band imaging (NBI) auf einer digitalen Alteration bzw. Reduktion des Weißlichtspektrums (Davaris et al. 2018). In einer Studie von Stanikova et al. konnte gezeigt werden, dass die diagnostische Sicherheit des SPIES superfizielle vaskuläre Strukturen benigner, prämaligener und maligner Läsionen zu detektieren und unterscheiden mit dem NBI vergleichbar ist (Stanikova et al. 2018). Im Vergleich zur NIR/ICG-Methode (5-10 mm) ist die Eindringtiefe dieser Verfahren aber auf nur etwa 1 mm begrenzt und hat damit besonders bei der Beurteilung hyperkeratotischer Befunde Limitationen (Davaris et al. 2018, Rosenthal et al. 2015). In der aktuellen Untersuchung waren auch im NIR/ICG-Bild oberflächliche Gefäße sichtbar, jedoch war SPIES diesbezüglich überlegen. Das Umschalten zwischen Weißlichtendoskopie, NIR und SPIES ist einfach durch Fußschalter und Knopfdruck am Kamerakopf möglich.

6.4. Bedeutung für die klinische Anwendung und Grenzen der Bedeutung von ICG

Die Testgenauigkeit (89,2%), Sensitivität (94,1%) und Spezifität (85,7) maligne Tumoren im Kopf-Hals-Bereich mit der NIR/ICG-Methode vorherzusagen war zufriedenstellend. Somit konnte die Studie demonstrieren, dass die in vivo NIR-Fluoreszenz-Endoskopie mit ICG zur diagnostischen Abklärung von Kopf-Hals-Tumoren eine wertvolle Ergänzung zur konventionellen WLE darstellen kann. Speziell beim intraoperativen Einsatz zu Tumorsektionen, wenn Blutungen und Koagulationsartefakte die Beurteilung zusätzlich erschweren können, ist allerdings ein sehr kräftiger Kontrast (tumor-to-background ratio) notwendig. Falsch ICG-positive Befunde von stark durchbluteten und chronisch entzündlichen benignen Geweben wie den Tonsillen, falsch-negative Befunde von hyperkeratotischen dysplastischen bzw. malignen Raumforderungen sowie die bisher histologisch ungeklärte Bedeutung der größeren ICG-positiven Tumorränder im Vergleich zur WLE stellen derzeit Limitationen des Verfahrens dar. Auch bei Plattenepithelkarzinomrezidiven nach vorangegangener Tumorthherapie scheint die Aussagekraft der Methode limitiert. Dies liegt möglicherweise an einer Alteration der biologischen Gewebeeigenschaften, insbesondere der vaskulären Perfusion und lymphatischen Drainage. Außerdem wäre es erstrebenswert automatisierte

Bildanalysemethoden für die ICG-Bilder, wie schon für die konfokaler Laser Endomikroskopie existent, zu entwickeln um die Methode zu objektivieren (Dittberner et al. 2016). Für eine sogenannte optical image-guided surgery wäre es außerdem hilfreich Tools zu entwickeln, welche eine Überlagerung von Weißlicht und ICG-Bilder erlauben und dem Chirurgen damit optimale visuelle Informationen für die Resektion liefern (Elliott et al. 2015). Ob durch eine ICG-image-guided tumor surgery eine höhere Rate von R0-Resektionen und funktionell besseres tumorchirurgisches Outcome erzielt werden kann muss letztlich in zukünftigen Studien, welche das NIR/ICG-Bild systematischen mit histologischen Befunden abgleichen aufgearbeitet werden. Die tiefere Gewebseindringtiefe von etwa 5 bis 10 mm ist ein Vorteil gegenüber anderen optischen Untersuchungsmethoden (wie zum Beispiel Autofluoreszenz, konfokaler Endomikroskopie oder optischer Kohärenztomographie) aber immer noch nicht ausreichend um größere Tumoren ($>T1$) vollständig zu erfassen (Rosenthal et al. 2015, Davaris et al. 2018). Da bislang kein optisches Verfahren den diagnostischen Goldstandard der Histologie abgelöst hat wäre derzeit eine Kombination verschiedener optischer Verfahren (NIR/ICG, SPIES, etc.), welche unterschiedliche Zusatzinformationen zur konventionellen WLE liefern, zur Beurteilung von Kopf-Hals-Tumoren wünschenswert. Schlussendlich liegt die Zukunft der optischen Kopf-Hals-Tumordiagnostik sowie image-guided surgery höchstwahrscheinlich in der (Weiter-) Entwicklung tumor-spezifischer NIR Fluorochrome, welche auf tumor-spezifischen Antikörpern wie Cetuximab (EGFR-Antikörper) oder Bevacizumab (VEGF-Antikörper) basieren (Nagaya et al. 2017).

7. Schlussfolgerung

Die NIR-Endoskopie mit ICG zur diagnostischen Abklärung von Kopf-Hals-Tumoren war bei allen 83 eingeschlossenen Patienten durchführbar. Komplikationen des Verfahrens oder Nebenwirkungen des ICG wurden nicht beobachtet. Der zeitliche Zusatzaufwand betrug im Durchschnitt nur 3 Minuten, was der Zeit der Untersuchung und Videoaufzeichnung selbst entsprach. Der technische Zusatzaufwand war überschaubar, da die Hals-Nasen-Ohrenklinik über moderne hochauflösende Videoendoskopieeinheiten verfügt, welche mit dem Zusatzfeature der Fluoreszenzbildgebung ausgestattet werden konnte. Für den operativ erfahrenen HNO-Chirurg erforderte die Methode keine Lernkurve und mit ICG stand ein sicheres, seit 1959 durch die FDA zugelassenes Fluorochrom zur Verfügung.

Die diagnostische Sicherheit maligne Tumoren (inklusive SIN III) mittels ICG-Positivität auf Basis einer offline-Analyse der NIR/ICG-Videos vorauszusagen war befriedigend. Die statistische Auswertung für das Verfahren ergab eine Sensitivität von 94,1%, Spezifität von 85,7% und Test-Genauigkeit von 89,2% sowie einen Positiv prädiktiven Wert von 82,1% und Negativ prädiktiven Wert von 95,5%. Dies war nach Wissensstand des Autors die erste Studie, welche die NIR/ICG-Endoskopie in einem größeren Patientenkollektiv zur Diagnostik von malignen, prämaligen und benignen Befunden der Kopf-Hals-Region untersuchte. Derzeit stellen falsch ICG-positive Befunde von benignen, chronisch entzündlichen Geweben wie den Tonsillen, falsch ICG-negative Befunde von hyperkeratotischen dysplastischen bzw. malignen Raumforderungen sowie die bisher ungeklärte Bedeutung der größeren ICG-positiven Tumorgrenzen im Vergleich zur WLE Limitationen des Verfahrens dar. Auch bei Plattenepithelkarzinomrezidiven nach vorangegangener Therapie scheint die Aussagekraft der Methode limitiert. Die hier erhobenen Resultate müssen in zukünftigen, größeren Studie bestätigt werden. Des Weiteren muss eine systematische Analyse der ICG-Bilder (ICG-positive Fläche) mit den histologischen Befunden (multiple Biopsien) erfolgen. Dies ist insbesondere im Tumorrandbereich relevant um Tumor, Dysplasie, Grad der Dysplasie und Entzündung akkurat voneinander abzugrenzen. Aufgrund oft ausgedehnter prä-neoplastischer Schleimhautveränderungen des oberen Aerodigestivtraktes im Sinne der Feldkanzerisierung ist dies bislang eine Herausforderung (Leemans et al. 2011). Letztendlich kann nur eine vollständige Tumoresektion inklusive dysplastischer high grade Areale mit adäquatem Sicherheitsabstand ein besseres Outcome garantieren (Baddour et al. 2016, Müller 2017). Ob durch eine ICG-image-guided tumor surgery eine höhere Rate von R0-Resektionen und funktionell besseres tumorchirurgisches Outcome erzielt werden kann muss allerdings in zukünftigen größeren Studien systematisch untersucht werden.

Ein weiterer Kritikpunkt des Verfahrens ist, dass die visuelle Beurteilung der ICG-Fluoreszenz durch den Untersucher subjektiv ist. Jedoch unterscheidet der HNO-Chirurg auch bei der bisherigen (Standard-)WLE Tumor und Normalgewebe visuell subjektiv auf der Basis vorangegangenen Erfahrung. Generell wäre es allerdings erstrebenswert eine uniforme Bewertungsskala der Fluoreszenz wie beispielsweise bei Yokoyama et al. zu etablieren oder noch besser automatisierte Bildanalysemethoden für die ICG-Bilder, wie schon für die konfokaler Laser Endomikroskopie existent, zu entwickeln um die Methode zu objektivieren (Yokoyama et al. 2013, Dittberner et al. 2016).

Die hier beschriebene klinische Anwendungsstudie der NIR/ICG-Endoskopie war insgesamt erst die 3. (Yokoyama et al. 2013, Digonnet et al. 2016) in vivo ICG-Studie zur Diagnostik solider Kopf-Hals-Tumoren und kann aufgrund der oben genannten Limitationen bislang den diagnostischen Goldstandard der Histologie noch nicht ersetzen. Die Methode hat jedoch das Potential in vivo eine Hilfe zur schnellen, sicheren Differenzierung benigner und maligner Raumforderungen des Kopf-Hals-Bereichs zu sein. Das Verfahren könnte die derzeitige Standarddiagnostik der Weißlichtendoskopie zur Diagnose und Nachsorge von malignen Kopf-Hals-Tumoren unterstützen sowie im Rahmen einer ICG image-guided tumor surgery Anwendung zu finden. Es sollte aber nicht vergessen werden, dass ICG letztlich ein unspezifisches Agens ist, welches passiv in soliden Tumoren akkumuliert (Schaafsma et al. 2011). Denkbar wäre es auch verschiedene visuelle Methoden bei der Diagnostik von Kopf-Hals-Tumoren zu kombinieren und entsprechende Bewertungsscores zu entwickeln. Arens Konzept der „optischen Biopsie“, welches hauptsächlich auf der Beurteilung oberflächlicher Gefäßformationen mit NBI (ebenso mit SPIES möglich) abzielt könnte mit der NIR/ICG-Endoskopie kombiniert werden und damit die Genauigkeit der optische Diagnostik weiter verbessern und der Histologie annähern (Arens et al. 2016).

Im Fokus zukünftiger Forschung scheint besonders die (Weiter-)Entwicklung von kombinierten tumorspezifischen Fluoreszenzstoffen wie Cetuximab (EGFR-Antikörper) oder Bevacizumab (VEGF-Antikörper) zu stehen (Nagaya et al. 2017). Über 90% der Plattenepithelkarzinome der Kopf-Hals-Region exprimieren EGFR und mit Cetuximab steht seit 2004 ein rekombinanter monoklonaler Antikörper zur medikamentösen Therapie dieser Tumoren bereit (Rosenthal et al. 2015). Die Kopplung solcher etablierter tumorspezifischer Antikörper mit NIR-Fluorochromen könnte die bisherigen Limitationen der NIR-Fluoreszenzendoskopie überwinden und Sensitivität, Spezifität sowie Kontrast der Fluoreszenzbildgebung bei soliden Kopf-Hals-Tumoren signifikant verbessern.

8. Literatur- und Quellenverzeichnis

- Ahmed M, Purushotham AD, Douek M. 2014. Novel techniques for sentinel lymph node biopsy in breast cancer: a systematic review. *Lancet Oncol*, 15 (8):e351-62.
- Argiris A, Karamouzis MV, Raben D, Ferris RL. 2008. Head and neck cancer. *Lancet*, 371 (9625):1695-709.
- Arens C, Betz C, Kraft M, Voigt-Zimmermann S. 2016. „Narrow band imaging“ zur Früherkennung epithelialer Dysplasien und mikroinvasiver Karzinome im oberen Luft-Speise-Weg. *HNO*, 64:19-26.
- Arens C, Glanz H, Voigt-Zimmermann S. 2015. Vascular Lesions of Vocal Folds - Part 2: Perpendicular Vascular Lesions. *Laryngorhinootologie*. 94 (11):738-44.
- Baddour HM Jr, Magliocca KR, Chen AY. 2016. The importance of margins in head and neck cancer. *J Surg Oncol*, 113 (3):248-55.
- Berrino F, De Angelis R, Sant M, Rosso S, Bielska-Lasota M, Coebergh JW, Santaquilani M; EURO CARE Working group. 2007. Survival for eight major cancers and all cancers combined for European adults diagnosed in 1995-99: results of the EURO CARE-4 study. *Lancet Oncol*, 8 (9):773-83.
- Bredell MG. 2010. Sentinel lymph node mapping by indocyanin green fluorescence imaging in oropharyngeal cancer - preliminary experience. *Head Neck Oncol*, 2:31.
- Christensen A, Juhl K, Charabi B, Mortensen J, Kiss K, Kjær A, von Buchwald C. 2016. Feasibility of Real-Time Near-Infrared Fluorescence Tracer Imaging in Sentinel Node Biopsy for Oral Cavity Cancer Patients. *Ann Surg Oncol*, 23 (2):565-72.
- Christopoulos A, Ahn SM, Klein JD, Kim S. 2011. Biology of vascular endothelial growth factor and its receptors in head and neck cancer: beyond angiogenesis. *Head Neck*, 33 (8):1220-9.
- Crane LM, Themelis G, Arts HJ, Buddingh KT, Brouwers AH, Ntziachristos V, van Dam GM, van der Zee AG. 2011. Intraoperative near-infrared fluorescence imaging for sentinel lymph node detection in vulvar cancer: first clinical results. *Gynecol Oncol*, 120 (2):291-5.
- Davaris N, Voigt-Zimmermann S, Cyran AM, Arens C. 2018. Endoskopische Frühdiagnostik von Karzinomen im oberen Aerodigestivtrakt. *Laryngo-Rhino-Otol*, 97:276–286.
- de Almeida JR, Li R, Magnuson JS, Smith RV, Moore E, Lawson G, Remacle M, Ganly I, Kraus DH, Teng MS, Miles BA, White H, Duvvuri U, Ferris RL, Mehta V, Kiyosaki K2, Damrose EJ, Wang SJ, Kupferman ME, Koh YW, Genden EM, Holsinger FC. 2015. Oncologic Outcomes After Transoral Robotic Surgery: A Multi-institutional Study. *JAMA Otolaryngol Head Neck Surg*, 141 (12):1043-1051.
- Diajil A, Robinson CM, Sloan P, Thomson PJ. 2013. Clinical outcome following oral potentially malignant disorder treatment: a 100 patient cohort study. *Int J Dent*, 2013:809248.
- Digonnet A, van Kerckhove S, Moreau M, Willemse E, Quiriny M, Ahmed B, de Saint Aubain N, Andry G, Bourgeois P. 2016. Near infrared fluorescent imaging after intravenous injection of indocyanine green during neck dissection in patients with head and neck cancer: A feasibility study. *Head Neck*, 38 Suppl 1:E1833-7.
- Dillon JK, Brown CB, McDonald TM, Ludwig DC, Clark PJ, Leroux BG, Futran ND. 2015. How does the close surgical margin impact recurrence and survival when treating oral squamous cell carcinoma? *J Oral Maxillofac Surg*, 73 (6):1182-8.
- Dittberner A, Rodner E, Ortmann W, Stadler J, Schmidt C, Petersen I, Stallmach A, Denzler J, Guntinas-Lichius O. 2016. Automated analysis of confocal laser endomicroscopy images to detect head and neck cancer. *Head Neck*, 38 Suppl 1:E1419-26.

- Elliott JT, Dsouza AV, Davis SC, Olson JD, Paulsen KD, Roberts DW, Pogue BW. 2015. Review of fluorescence guided surgery visualization and overlay techniques. *Biomed Opt Express*, 6 (10):3765-82.
- Ernst BP, Strieth S. 2017. Aktuelle Entwicklung der molekular zielgerichteten Therapie von Kopf-Hals-Karzinomen. *Laryngo-Rhino-Otol*, 96:185–98.
- Fasunla AJ, Greene BH, Timmesfeld N, Wiegand S, Werner JA, Sesterhenn AM. 2011. A meta-analysis of the randomized controlled trials on elective neck dissection versus therapeutic neck dissection in oral cavity cancers with clinically node-negative neck. *Oral Oncol*, 47 (5):320-4.
- Fleskens S, Slootweg P. 2009. Grading systems in head and neck dysplasia: their prognostic value, weaknesses and utility. *Head Neck Oncol*, 1:11.
- Gale N, Poljak M, Zidar N. 2017. Update from the 4th Edition of the World Health Organization Classification of Head and Neck Tumours: What is New in the 2017 WHO Blue Book for Tumours of the Hypopharynx, Larynx, Trachea and Parapharyngeal Space. *Head Neck Pathol*, 11 (1):23-32.
- Gao RW, Teraphongphom N, de Boer E, van den Berg NS, Divi V, Kaplan MJ, Oberhelman NJ, Hong SS, Capes E, Colevas AD, Warram JM, Rosenthal EL. 2018. Safety of panitumumab-IRDye800CW and cetuximab-IRDye800CW for fluorescence-guided surgical navigation in head and neck cancers. *Theranostics*, 8 (9):2488-2495.
- Gilmore DM, Khullar OV, Gioux S, Stockdale A, Frangioni JV, Colson YL, Russell SE. 2013. Effective low-dose escalation of indocyanine green for near-infrared fluorescent sentinel lymph node mapping in melanoma. *Ann Surg Oncol*, 20 (7):2357-63.
- Goel HL, Mercurio AM. 2013. VEGF targets the tumour cell. *Nat Rev Cancer*, 13 (12):871-82.
- Gotoh K, Yamada T, Ishikawa O, Takahashi H, Eguchi H, Yano M, Ohigashi H, Tomita Y, Miyamoto Y, Imaoka S. 2009. A novel image-guided surgery of hepatocellular carcinoma by indocyanine green fluorescence imaging navigation. *J Surg Oncol*, 100 (1):75-9.
- Hagen A, Grosenick D, Macdonald R, Rinneberg H, Burock S, Warnick P, Poellinger A, Schlag PM. 2009. Late-fluorescence mammography assesses tumor capillary permeability and differentiates malignant from benign lesions. *Opt Express*, 17 (19):17016-33.
- Hammerman PS, Hayes DN, Grandis JR. 2015. Therapeutic insights from genomic studies of head and neck squamous cell carcinomas. *Cancer Discov*, 5 (3):239-44.
- Hartl DM, de Monès E, Hans S, Janot F, Brasnu D. 2007. Treatment of early-stage glottic cancer by transoral laser resection. *Ann Otol Rhinol Laryngol*, 116 (11):832-6.
- Hashibe M, Brennan P, Chuang SC, Boccia S, Castellsague X, Chen C, Curado MP, Dal Maso L, Daudt AW, Fabianova E, Fernandez L, Wünsch-Filho V, Franceschi S, Hayes RB, Herrero R, Kelsey K, Koifman S, La Vecchia C, Lazarus P, Levi F, Lence JJ, Mates D, Matos E, Menezes A, McClean MD, Muscat J, Eluf-Neto J, Olshan AF, Purdue M, Rudnai P, Schwartz SM, Smith E, Sturgis EM, Szeszenia-Dabrowska N, Talamini R, Wei Q, Winn DM, Shangina O, Pilarska A, Zhang ZF, Ferro G, Berthiller J, Boffetta P. 2009. Interaction between tobacco and alcohol use and the risk of head and neck cancer: pooled analysis in the International Head and Neck Cancer Epidemiology Consortium. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev*, 18 (2):541-50.
- Hicklin DJ, Ellis LM. 2005. Role of the vascular endothelial growth factor pathway in tumor growth and angiogenesis. *J Clin Oncol*, 23 (5):1011-27.
- Hinni ML, Ferlito A, Brandwein-Gensler MS, Takes RP, Silver CE, Westra WH, Seethala RR, Rodrigo JP, Corry J, Bradford CR, Hunt JL, Stojan P, Devaney KO, Gnepp DR, Hartl DM, Kowalski LP, Rinaldo A, Barnes L. 2013. Surgical margins in head and neck cancer: a contemporary review. *Head Neck*, 35 (9):1362-70.

- Hoffmann M, Quabius ES, Tribius S, Gebhardt S, Görögh T, Hedderich J, Huber K, Dunst J, Ambrosch P. 2018. Influence of HPV-status on survival of patients with tonsillar carcinomas (TSCC) treated by CO₂-laser surgery plus risk adapted therapy - A 10 year retrospective single centre study. *Cancer Lett*, 413:59-68.
- Holm C, Dornseifer U, Sturtz G, Ninkovic M. 2010. Sensitivity and specificity of ICG angiography in free flap reexploration. *J Reconstr Microsurg*, 26 (5):311-6.
- Holsinger FC, Ferris RL. 2015. Transoral Endoscopic Head and Neck Surgery and Its Role Within the Multidisciplinary Treatment Paradigm of Oropharynx Cancer: Robotics, Lasers, and Clinical Trials. *J Clin Oncol*, 33 (29):3285-92.
- Holt D, Okusanya O, Judy R, Venegas O, Jiang J, DeJesus E, Eruslanov E, Quatromoni J, Bhojnagarwala P, Deshpande C, Albelda S, Nie S, Singhal S. 2014. Intraoperative near-infrared imaging can distinguish cancer from normal tissue but not inflammation. *PLoS One*, 9 (7):e103342.
- Hope-Ross M, Yannuzzi LA, Gragoudas ES, Guyer DR, Slakter JS, Sorenson JA, Krupsky S, Orlock DA, Puliafito CA. 1994. Adverse reactions due to indocyanine green. *Ophthalmology*, 101 (3):529-33.
- Ishizawa T, Masuda K, Urano Y, Kawaguchi Y, Satou S, Kaneko J, Hasegawa K, Shibahara J, Fukayama M, Tsuji S, Midorikawa Y, Aburatani H, Kokudo N. 2014. Mechanistic background and clinical applications of indocyanine green fluorescence imaging of hepatocellular carcinoma. *Ann Surg Oncol*, 21 (2):440-8.
- Jerjes W, Hamdoon Z, Hopper C. 2012. CO₂ lasers in the management of potentially malignant and malignant oral disorders. *Head Neck Oncol*, 4:17.
- Jewell EL, Huang JJ, Abu-Rustum NR, Gardner GJ, Brown CL, Sonoda Y, Barakat RR, Levine DA, Leitaio MM Jr. 2014. Detection of sentinel lymph nodes in minimally invasive surgery using indocyanine green and near-infrared fluorescence imaging for uterine and cervical malignancies. *Gynecol Oncol*, 133 (2):274-7.
- Keating J, Tchou J, Okusanya O, Fisher C, Batiste R, Jiang J, Kennedy G, Nie S, Singhal S. 2016. Identification of breast cancer margins using intraoperative near-infrared imaging. *J Surg Oncol*, 113 (5):508-14.
- Keereweer S, Van Driel PB, Snoeks TJ, Kerrebijn JD, Baatenburg de Jong RJ, Vahrmeijer AL, Sterenborg HJ, Löwik CW. 2013. Optical image-guided cancer surgery: challenges and limitations. *Clin Cancer Res*, 19 (14):3745-54.
- Kim K, Amonkar MM, Högborg D, Kasteng F. 2011. Economic burden of resected squamous cell carcinoma of the head and neck in an incident cohort of patients in the UK. *Head Neck Oncol*, 3:47.
- Kimura T, Muguruma N, Ito S, Okamura S, Imoto Y, Miyamoto H, Kaji M, Kudo E. 2007. Infrared fluorescence endoscopy for the diagnosis of superficial gastric tumors. *Gastrointest Endosc*, 66 (1):37-43.
- Kitano S, Kim YI. 1997. ICG clearance in assessing cirrhotic patients with hepatocellular carcinoma for major hepatic resection. *HPB Surg*, 10 (3):182-3.
- Komorowska-Timek E, Gurtner GC. 2010. Intraoperative perfusion mapping with laser-assisted indocyanine green imaging can predict and prevent complications in immediate breast reconstruction. *Plast Reconstr Surg*, 125 (4):1065-73.
- Lee JJ, Hong WK, Hittelman WN, Mao L, Lotan R, Shin DM, Benner SE, Xu XC, Lee JS, Papadimitrakopoulou VM, Geyer C, Perez C, Martin JW, El-Naggar AK, Lippman SM. 2000. Predicting cancer development in oral leukoplakia: ten years of translational research. *Clin Cancer Res*, 6 (5):1702-10.
- Leemans CR, Braakhuis BJ, Brakenhoff RH. 2011. The molecular biology of head and neck cancer. *Nat Rev Cancer*, 11 (1):9-22.

- Leitlinien der Krebsgesellschaft Kopf-Hals Tumore. <https://www.krebsgesellschaft.de/onko-internetportal/basis-informationen-krebs/krebsarten/andere-krebsarten/kopf-hals-tumoren.html>.
- Leoncini E, Vukovic V, Cadoni G, Pastorino R, Arzani D, Bosetti C, Canova C, Garavello W, La Vecchia C, Maule M, Petrelli L, Pira E, Polesel J, Richiardi L, Serraino D, Simonato L, Ricciardi W, Boccia S. 2015. Clinical features and prognostic factors in patients with head and neck cancer: Results from a multicentric study. *Cancer Epidemiol*, 39 (3):367-74.
- Libérale G, Bourgeois P, Larsimont D, Moreau M, Donckier V, Ishizawa T. 2017. Indocyanine green fluorescence-guided surgery after IV injection in metastatic colorectal cancer: A systematic review. *Eur J Surg Oncol*, 43 (9):1656-1667.
- Liu W, Wang YF, Zhou HW, Shi P, Zhou ZT, Tang GY. 2010. Malignant transformation of oral leukoplakia: a retrospective cohort study of 218 Chinese patients. *BMC Cancer*, 10:685.
- Makki FM, Rigby MH, Bullock M, Brown T, Hart RD, Trites J, Hinni ML, Taylor SM. 2014. CO(2) laser versus cold steel margin analysis following endoscopic excision of glottic cancer. *J Otolaryngol Head Neck Surg*, 43:6.
- Manny TB, Patel M, Hemal AK. 2014. Fluorescence-enhanced robotic radical prostatectomy using real-time lymphangiography and tissue marking with percutaneous injection of unconjugated indocyanine green: the initial clinical experience in 50 patients. *Eur Urol*, 65 (6):1162-8.
- Marur S, Forastiere AA. 2008. Head and neck cancer: changing epidemiology, diagnosis, and treatment. *Mayo Clin Proc*, 83 (4):489-501.
- Marur S, Forastiere AA. 2016. Head and Neck Squamous Cell Carcinoma: Update on Epidemiology, Diagnosis, and Treatment. *Mayo Clin Proc*, 91 (3):386-96.
- Mataki N, Nagao S, Kawaguchi A, Matsuzaki K, Miyazaki J, Kitagawa Y, Nakajima H, Tsuzuki Y, Itoh K, Niwa H, Miura S. 2003. Clinical usefulness of a new infrared videoendoscope system for diagnosis of early stage gastric cancer. *Gastrointest Endosc*, 57 (3):336-42.
- Miyashiro I, Hiratsuka M, Kishi K, Takachi K, Yano M, Takenaka A, Tomita Y, Ishiguro S. 2013. Intraoperative diagnosis using sentinel node biopsy with indocyanine green dye in gastric cancer surgery: an institutional trial by experienced surgeons. *Ann Surg Oncol*, 20 (2):542-6.
- Moore GE, Peyton WT, 1948. The clinical use of fluorescein in neurosurgery; the localization of brain tumors. *J Neurosurg*, 5 (4):392-8.
- Mozet C, Dietz A. 2010. Malignome des Larynx. *Laryngo-Rhino-Otol*, 89:295-315.
- Müller S. 2017. Update from the 4th Edition of the World Health Organization of Head and Neck Tumours: Tumours of the Oral Cavity and Mobile Tongue. *Head Neck Pathol*, 11 (1):33-40.
- Nagaya T, Nakamura YA, Choyke PL, Kobayashi H. 2017. Fluorescence-Guided Surgery. *Front Oncol*, 7:314.
- Ohba S, Yokoyama J, Fujimaki M, Ito S, Kojima M, Shimoji K, Ikeda K. 2012. Significant improvement in superselective intra-arterial chemotherapy for oral cancer by using indocyanine green fluorescence. *Oral Oncol*, 48 (11):1101-5.
- Okusanya OT, Holt D, Heitjan D, Deshpande C, Venegas O, Jiang J, Judy R, DeJesus E, Madajewski B, Oh K, Wang M, Albelda SM, Nie S, Singhal S. 2014. Intraoperative near-infrared imaging can identify pulmonary nodules. *Ann Thorac Surg*, 98 (4):1223-30.
- Olsen AH, Parkin DM, Sasieni P. 2008. Cancer mortality in the United Kingdom: projections to the year 2025. *Br J Cancer*, 99 (9):1549-54.

- Olsen TW, Lim JJ, Capone A Jr, Myles RA, Gilman JP. 1996. Anaphylactic shock following indocyanine green angiography. *Arch Ophthalmol*, 114 (1):97.
- Paleri V, Urbano TG, Mehanna H, Repanos C, Lancaster J, Roques T, Patel M, Sen M. 2016. Management of neck metastases in head and neck cancer: United Kingdom National Multidisciplinary Guidelines. *J Laryngol Otol*, 130 (S2):S161-S169.
- Parkin DM, Bray F, Ferlay J, Pisani P. 2005. Global cancer statistics, 2002. *CA Cancer J Clin*, 55 (2):74-108.
- Peng H, Wang SJ, Niu X, Yang X, Chi C, Zhang G. 2015. Sentinel node biopsy using indocyanine green in oral/oropharyngeal cancer. *World J Surg Oncol*, 13: 278.
- Pestana IA, Coan B, Erdmann D, Marcus J, Levin LS, Zenn MR. 2009. Early experience with fluorescent angiography in free-tissue transfer reconstruction. *Plast Reconstr Surg*, 123 (4):1239-44.
- Pytynia KB, Dahlstrom KR, Sturgis EM. 2014. Epidemiology of HPV-associated oropharyngeal cancer. *Oral Oncol*, 50 (5):380-6.
- Rawal JD, Doshi BD, Kariya VB, Jadav H.R, Patel MD. 2015. Morphometric Study of Vocal Folds in Indian Cadavers. *BJKines-NJBAS*, 7: 38-43.
- Rosenthal EL, Warram JM, de Boer E, Chung TK, Korb ML, Brandwein-Gensler M, Strong TV, Schmalbach CE, Morlandt AB, Agarwal G, Hartman YE, Carroll WR, Richman JS, Clemons LK, Nabell LM, Zinn KR. 2015. Safety and Tumor Specificity of Cetuximab-IRDye800 for Surgical Navigation in Head and Neck Cancer. *Clin Cancer Res*, 21 (16):3658-66.
- Ryser MD, Lee WT, Ready NE, Leder KZ, Foo J. 2016. Quantifying the Dynamics of Field Cancerization in Tobacco-Related Head and Neck Cancer: A Multiscale Modeling Approach. *Cancer Res*, 76 (24):7078-7088.
- Schaafsma BE, Mieog JS, Hutteman M, van der Vorst JR, Kuppen PJ, Löwik CW, Frangioni JV, van de Velde CJ, Vahrmeijer AL. 2011. The clinical use of indocyanine green as a near-infrared fluorescent contrast agent for image-guided oncologic surgery. *J Surg Oncol*, 104 (3):323-32.
- Schmidt F, Dittberner A, Koscielny S, Petersen I, Guntinas-Lichius O. 2016. Feasibility of real-time near-infrared indocyanine green fluorescence endoscopy for the evaluation of mucosal head and neck lesions. *Head Neck*. 39 (2):234-240.
- Shah AK. 2018. Postoperative pathologic assessment of surgical margins in oral cancer: A contemporary review. *J Oral Maxillofac Pathol*, 22 (1): 78–85.
- Sinno AK, Fader AN, Roche KL, Giuntoli RL 2nd, Tanner EJ. 2014. A comparison of colorimetric versus fluorometric sentinel lymph node mapping during robotic surgery for endometrial cancer. *Gynecol Oncol*, 134 (2):281-6.
- Slaughter DP, Southwick HW, Smejkal W. 1953. "Field Cancerization" in oral stratified squamous epithelium, Clinical Implications of Multicentric Origin. *Cancer*, 6:963-68.
- Speich R, Saesseli B, Hoffmann U, Neftel KA, Reichen J. 1988. Anaphylactoid reactions after indocyanine-green administration. *Ann Intern Med*, 109 (4):345-6.
- Staníková L, Walderová R, Jančatová D, Formánek M, Zeleník K, Komínek P. 2018. Comparison of narrow band imaging and the Storz Professional Image Enhancement System for detection of laryngeal and hypopharyngeal pathologies. *Eur Arch Otorhinolaryngol*, 275 (7):1819-1825.
- Steiner W. 1993. Results of curative laser microsurgery of laryngeal carcinomas. *Am J Otolaryngol*, 14 (2):116-21.
- Stokes G. 1852. On the Change of Refrangibility of Light. *Philosophical Transactions of the Royal Society of London*, 142:463-562.
- Sturgis EM, Wei Q, Spitz MR. 2004. Descriptive epidemiology and risk factors for head and neck cancer. *Semin Oncol*, 31 (6):726-33.

- Tabor MP, Brakenhoff RH, van Houten VM, Kummer JA, Snel MH, Snijders PJ, Snow GB, Leemans CR, Braakhuis BJ. 2001. Persistence of genetically altered fields in head and neck cancer patients: biological and clinical implications. *Clin Cancer Res*, 7(6):1523-32.
- The National Comprehensive Cancer Network, NCCN guidelines. https://www.nccn.org/professionals/physician_gls/default.aspx#head-and-neck.
- The National Institute for Health and Care Excellence, NICE guidelines head and neck cancer. Head and neck cancers - recognition and referral. 2016. <https://cks.nice.org.uk/head-and-neck-cancers-recognition-and-referral>.
- Tipirneni KE, Warram JM, Moore LS, Prince AC, de Boer E, Jani AH, Wapnir IL, Liao JC, Bouvet M, Behnke NK, Hawn MT, Poultsides GA, Vahrmeijer AL, Carroll WR, Zinn KR, Rosenthal E. 2017. Oncologic Procedures Amenable to Fluorescence-guided Surgery. *Ann Surg*, 266 (1):36-47.
- Torre LA, Bray F, Siegel RL, Ferlay J, Lortet-Tieulent J, Jemal A. 2015. Global cancer statistics, 2012. *CA Cancer J Clin*, 65 (2):87-108.
- Tummers QRJG, Verbeek FPR, Prevoo HAJM, Braat AE, Baeten CIM, Frangioni JV, van de Velde CJH, Vahrmeijer AL. 2015. First Experience on Laparoscopic Near-Infrared Fluorescence Imaging of Hepatic Uveal Melanoma Metastases using Indocyanine Green. *Surg Innov*, 22 (1): 20–25.
- van der Pas MH, Ankersmit M, Stockmann HB, Silvis R, van Grieken NC, Bril H, Meijerink WJ. 2013. Laparoscopic sentinel lymph node identification in patients with colon carcinoma using a near-infrared dye: description of a new technique and feasibility study. *J Laparoendosc Adv Surg Tech A*, 23 (4):367-71.
- van der Vorst JR, Schaafsma BE, Hutteman M, Verbeek FP, Liefers GJ, Hartgrink HH, Smit VT, Löwik CW, van de Velde CJ, Frangioni JV, Vahrmeijer AL. 2013. Near-infrared fluorescence-guided resection of colorectal liver metastases. *Cancer*, 119 (18):3411-8.
- van der Vorst JR, Schaafsma BE, Verbeek FP, Keereweer S, Jansen JC, van der Velden LA, Langeveld AP, Hutteman M, Löwik CW, van de Velde CJ, Frangioni JV, Vahrmeijer AL. 2013. Near-infrared fluorescence sentinel lymph node mapping of the oral cavity in head and neck cancer patients. *Oral Oncol*, 49 (1):15-9.
- Vassilakopoulou M, Psyrris A, Argiris A. 2015. Targeting angiogenesis in head and neck cancer. *Oral Oncol*, 51 (5):409-15.
- Watanabe M, Tsunoda A, Narita K, Kusano M, Miwa M. 2009. Colonic tattooing using fluorescence imaging with light-emitting diode-activated indocyanine green: a feasibility study. *Surg Today*, 39 (3):214-8.
- Wissinger E, Griebisch I, Lungershausen J, Byrnes M, Travers K, Pashos CL. 2014. The humanistic burden of head and neck cancer: a systematic literature review. *Pharmacoeconomics*, 32 (12):1213-29.
- Wolff HA, Wolff CR, Hess CF, Jung K, Sennhenn-Kirchner S, Hinterthaler M, Müller-Dornieden A, Körber W, Marten-Engelke K, Roedel R, Christiansen H, Engelke C. 2013. Second primary malignancies in head and neck cancer patients: high prevalence of curable-stage disease. *Strahlenther Onkol*, 189 (10):874-80.
- Woolgar JA, Triantafyllou A. 2005. A histopathological appraisal of surgical margins in oral and oropharyngeal cancer resection specimens. *Oral Oncol*, 41 (10):1034-43.
- Wreesmann VB, Katabi N, Palmer FL, Montero PH, Migliacci JC, Gönen M, Carlson D, Ganly I, Shah JP, Ghossein R, Patel SG. 2016. Influence of extracapsular nodal spread extent on prognosis of oral squamous cell carcinoma. *Head Neck*, 38 Suppl 1:E1192-9.
- Yamashita S, Tokushima K, Anami K, Miyawaki M, Moroga T, Kamei M, Suehiro S, Ono K, Takeno S, Chujo M, Yamamoto S, Kawahara K. 2011. Video-assisted thoracoscopic indocyanine green fluorescence imaging system shows sentinel lymph nodes in non-small-cell lung cancer. *J Thorac Cardiovasc Surg*, 141 (1):141-4.

- Yokoyama J, Fujimaki M, Ohba S, Anzai T, Yoshii R, Ito S, Kojima M, Ikeda K. 2013. A feasibility study of NIR fluorescent image-guided surgery in head and neck cancer based on the assessment of optimum surgical time as revealed through dynamic imaging. *Onco Targets Ther*, 6:325-30.
- Yokoyama J, Ohba S, Fujimaki M, Kojima M, Suzuki M, Ikeda K. 2014. Significant improvement in superselective intra-arterial chemotherapy for advanced paranasal sinus cancer by using indocyanine green fluorescence. *Eur Arch Otorhinolaryngol*, 271 (10):2795-801.
- Zelken JA, Tufaro AP. 2015. Current Trends and Emerging Future of Indocyanine Green Usage in Surgery and Oncology: An Update. *Ann Surg Oncol*, 22 Suppl 3:S1271-83.
- Zenga J, Gross J, Fowler S, Chen J, Vila P, Richmon JD, Varvares MA, Pipkorn P. 2018. Salvage of recurrence after surgery and adjuvant therapy: A systematic review. *Am J Otolaryngol*, 39 (2):223-227.

9. Abbildungsverzeichnis

Abb. 1: Feldkanzerisierung und Lokalrezidiv. Das Verhältnis von Feldkanzerisierung und verschiedenen Arten eines Tumorrezidivs wird schematisch dargestellt. Abbildung aus: Leemans et al. 2011.....	13
Abb. 2: Leitfaden Kopf-Hals-Tumoren des Tumorzentrums des Universitätsklinikum Freiburg. Abbildung aus: https://www.uniklinik-freiburg.de/fileadmin/mediapool/09_zentren/cccf/pdf/Pathways/Pathway_Kopf-Hals-Tumore.pdf	20
Abb. 3: Schematisch vereinfachte Darstellung des Prinzips der Fluoreszenz. Aus: Endo Press ® GmbH „Nahinfrarot-Endoskopie mit Indocyaningrün in der HNO-Heilkunde“ 2016.....	23
Abb. 4: Strukturformel von Indocyaningrün. Aus: Hope-Ross et al. 1994.....	24
Abb. 5: Verhältnis zwischen Nahinfrarot (NIR) Bereich und dem sichtbaren Licht. Aus: Endo Press ® GmbH „Nahinfrarot-Endoskopie mit Indocyaningrün in der HNO-Heilkunde“ 2016.....	24
Abb. 6: Anzahl klinischer Studien und Publikationen pro Jahr zur fluorescence-guided surgery. Aus: Tipirneni et al. 2017.....	26
Abb. 7: Darstellung des genutzten NIR-Kamerasystems. Aus: Endo Press ® GmbH „Nahinfrarot-Endoskopie mit Indocyaningrün in der HNO-Heilkunde“ 2016.....	33
Abb. 8: Prinzip der NIR-Endoskopie mit ICG. Aus: http://endovet.co.kr/comm/public/goods/1707/1500601077_3.pdf?PHPSESSID=37f49377c69979522f9ea1bf20359f59	35
Abb. 9: Intraoperatives Setting mit starrer Laryngoskopie im Rahmen einer standardisierten Panendoskopie. Aus: Schmidt et al. 2017.....	36
Abb. 10: Normalbefund des Oropharynx (links) und Stimmlippenpolyp (rechts). Weißlichtendoskopische Ansicht (A, D) und NIR/ICG-Endoskopie Übersicht (B, E) sowie Nahbetrachtung (C, F).....	41
Abb. 11: Nicht-maligne Raumforderungen des Larynx mit Weißlichtendoskopie (links) und NIR-Endoskopie mit ICG (rechts) betrachtet. Abbildungen A, D, F, I aus: Schmidt et al. 2017.....	43
Abb. 12: Oropharynxkarzinom links bei 0 sec im Weißlichtbild und ab 1 sec im NIR-Modus mit ICG.....	45
Abb. 13: Maligne Raumforderungen von Larynx (A,B,C), Oropharynx (D) und Mundhöhle (E) mit Weißlichtbetrachtung (links) und NIR-Endoskopie mit ICG (rechts). Abbildungen A, D, F, I aus: Schmidt et al. 2017.....	46
Abb. 14: Maligne Tumoren im Weißlichtbild (links) und NIR-Modus mit ICG (rechts), welche ein ICG-positives Fluoreszenzsignal und ICG-Retention zeigen.....	49
Abb. 15: Tumorrand im Weißlichtbild mit kleinem Randsaum (gestrichelte Linie). Tatsächlich ist die Fluoreszenz im NIR-Modus deutlich ausgedehnter; an der Rachenhinterwand deutlich sichtbare Gefäßzeichnung, welche im ICG-positiven Bereich des Tumors fehlt. Aus: Endo Press ® GmbH „Nahinfrarot-Endoskopie mit Indocyaningrün in der HNO-Heilkunde“ 2016.....	51
Abb. 16: Tumorgrenze im Weißlichtbild (oben) kann täuschen (gestrichelte Linie); tatsächlich verläuft im Einklang mit dem Eindruck der recht homogenen Fluoreszenz im NIR/ICG-Bild (unten) die Tumorgrenze weiter medial und kranial (durchgezogene Linie) im Weichgaumen rechts; an der Rachenhinterwand, jedoch nicht im ICG-positiven Bereich sind normale Gefäße erkennbar. Aus: Endo Press ® GmbH „Nahinfrarot-Endoskopie mit Indocyaningrün in der HNO-Heilkunde“ 2016.....	51

Abb. 17: Tumorrand im Weißlichtbild (oben) erscheint mit relativ scharfer Begrenzung (gestrichelte Linie); im NIR/ICG-Bild (unten) zeigt sich eine deutlich größere Ausdehnung. Normale Gefäße sind an der Rachenhinterwand, aber nicht im tumorassoziierten ICG-positiven Bereich sichtbar, welcher die Weißlichttumorgrenze überragt.....	52
Abb. 18: Glottisches Karzinom links. Die leukoplakischen und hyperkeratotischen Bereiche zeigen typischerweise keine ICG-Fluoreszenz. Weißlicht- und NIR/ICG-Bild zeigen eine identische Tumorgroße. Aus: Endo Press ® GmbH „Nahinfrarot-Endoskopie mit Indocyaningrün in der HNO-Heilkunde“2016	52
Abb. 19: Normalbefund der Tonsillen im Weißlichtbild (oben) und NIR/ICG-Bild (unten). Im NIR/ICG-Modus zeigt sich eine symmetrische Fluoreszenz der Tonsillen wobei deren Begrenzung identisch zur Weißlichtbetrachtung ist.....	53
Abb. 20: Endoskopische Nahbetrachtung von Tumoren im Weißlichtbild (links) und NIR/ICG-Bild (rechts).....	54
Abb. 21: Maligne Raumforderungen des Kopf-Halses unter Weißlicht (links) und NIR-Endoskopie mit ICG (rechts). Die Tumoren der Mundhöhle (A, C) und des Hypopharynx (B, D) sind ICG-positiv. Pooling von Blut am Boden und in den Ulzerationen des Tumors schränken die Beurteilbarkeit aufgrund der starken Fluoreszenz des im Blutplasma gebundenen ICGs in diesen Bereichen ein.....	55
Abb. 22: Endoskopische Darstellung eines Reinke Ödems rechts. Es zeigen sich in jedem Bild normale längliche Gefäße der Stimmlippe. In der SPECTRA A (Filterung von Rottönen) und SPECTRA B (Intensivierung der blauen und grünen Lichtanteile) zeigt eine stärkere Kontrastierung besonders der Gefäßstrukturen.....	57
Abb. 23: Vernarbung der vorderen Stimmlippe links nach Voroperation. Darstellung des Befundes mit verschiedenen Visualisierungstechniken. CHROMA zeigt eine Kontrastanhebung im Vergleich zum Weißlichtbild. CHROMA + CLARA zeigen einen verstärkten Kontrast und homogenere Ausleuchtung der tiefen Bildanteile (hier der Trachea). SPECTRA A und B zeigen ebenfalls einen verbesserten Kontrast durch Farbmodifikation sowie insbesondere eine bessere Visualisierung der normalen Gefäßarchitektur des Larynx. Visuell grenzt sich der narbige Bereich hier im NIR/ICG-Bild allerdings am besten ab.....	58
Abb. 24: Plattenepithelkarzinom des Mundbodens dargestellt mit verschiedenen SPIES Visualisierungstechniken.....	59
Abb. 25: Plattenepithelkarzinom des Gaumens dargestellt mit verschiedenen Visualisierungstechniken.....	60
Abb. 26: Auswahl intra-operativer Nahinfrarot-Kamerasysteme. Aus: Keereweert et al. 2011.....	63
Abb. 27: Bedeutung von VEGF in Tumoren. Aus: Goel und Mercurio 2013.....	67

10. Tabellenverzeichnis

Tab. 1: Übersicht derzeit in vivo verwendeter Fluoreszenzfarbstoffe neben ICG und deren Anwendungsgebiete. Aus: Nagaya et al.2017.....	27
Tab. 2: Übersicht über Anwendungsgebiete von ICG in Studien verschiedener onkologischer Fachdisziplinen. Aus: Zelken und Tufaro 2015.....	29
Tab. 3: Patientencharakteristika der Studie.....	40
Tab. 4: Relation Histologie zu Indocyaningrün-Positivität und Indocyaningrün-positiven Gefäßen.....	42
Tab. 5: Diagnostische Sicherheit der ICG-Positivität maligne Tumoren (n=83) vorherzusagen. *Einschließlich Plattenepithelkarzinome (26), Lymphome (2) und hochgradige Dysplasie (=SIN III; 4).....	47
Tab. 6: Relation von histopathologischem Ergebnis zur ICG-Retention bei Indocyaningrün-positiven Tumoren.....	48
Tab. 7: Relation von histopathologischem Ergebnis zur Größenbeurteilung ICG-positiver Tumoren im NIR-Modus im Vergleich zur Weißlichtdarstellung.....	50
Tab. 8: Visualisierungstechniken des IMAGE1 S Systems. Aus: https://www.karlstorz.com/cps/rde/xbcr/karlstorz_assets/ASSETS/3544131.pdf	56
Tab. 9: Evaluation oberflächlicher Gefäße von Kopf-Hals-Befunden mittels NIR/ICG-Endoskopie und SPIES in Relation zum histologischen Befund.....	57
Tab. 10: Auswahl klinischer Nahinfrarot-Kamerasysteme. Aus: Schaafsma et al. 2011	63
Tab. 11: Subjektiver 6-stufiger NIR Fluoreszenz imaging visibility score. Aus: Yokoyama et al. 2013.....	68

11. Anhang

11.1. Vorabpublikation

Florian Schmidt, Andreas Dittberner, Sven Koscielny, Iver Petersen, Orlando Guntinas-Lichius. 2016. Feasibility of real-time near-infrared indocyanine green fluorescence endoscopy for the evaluation of mucosal head and neck lesions. Head & Neck Journal of the Sciences and Specialties of the Head and Neck, 39 (2):234-240.

11.3. Danksagung

Ich möchte mich bei allen Beteiligten bedanken, die mich bei der Anfertigung dieser Arbeit unterstützt haben. Besonderer Dank gilt:

Herrn Univ.-Prof. Dr. med. Orlando Guntinas-Lichius, Direktor der Klinik für Hals-, Nasen- und Ohrenheilkunde des Universitätsklinikums Jena, für die freundliche Überlassung des Themas, die entscheidenden Anregungen während der Erstellung der Arbeit sowie die kritische Betrachtung und die hilfreichen Hinweise.

Den ärztlichen Kollegen und dem (Pflege-)Personal der Klinik für Hals-, Nasen- und Ohrenheilkunde für die Unterstützung im Rahmen der Datenerhebung.

Ganz besonderer Dank gilt meiner Frau Cristina und meiner Familie für die fortwährende moralische Unterstützung und Motivation.

Nicht zuletzt danke ich allen Patienten, die an dieser Untersuchung teilgenommen haben, und die Durchführung dadurch überhaupt ermöglichten.

Vielen Dank!

11.4. Ehrenwörtliche Erklärung

Hiermit erkläre ich, dass mir die Promotionsordnung der Medizinischen Fakultät der Friedrich-Schiller-Universität bekannt ist,

Ich die Dissertation selbst angefertigt habe und alle von mir benutzten Hilfsmittel, persönlichen Mitteilungen und Quellen in meiner Arbeit angegeben sind,

mich folgende Person bei der Auswahl und Auswertung der Materials sowie bei der Herstellung des Manuskripts unterstützt haben:

- Herr Univ.-Prof. Dr. med. Orlando Guntinas- Lichius

die Hilfe eines Promotionsberaters nicht in Anspruch genommen wurde und dass Dritte weder unmittelbar noch mittelbar geldwerte Leistungen von mir für Arbeiten erhalten haben, die im Zusammenhang mit dem Inhalt der vorgelegten Dissertation stehen,

dass ich die Dissertation noch nicht als Prüfungsarbeit für eine staatliche oder andere wissenschaftliche Prüfung eingereicht habe und

dass ich die gleiche, eine in wesentlichen Teilen ähnliche oder eine andere Abhandlung nicht bei einer anderen Hochschule als Dissertation eingereicht habe.

Ort, Datum

Unterschrift des Verfassers